Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene
und –technologie–Fachrichtung Fleischhygiene –
der Freien Universität Berlin

Das Verhalten antibiotisch wirksamer Rückstände im Fleisch nach Hitze- und Gefrierbehandlung mit Untersuchungen über die Brauchbarkeit verschiedener Teststämme im Agardiffusionstest

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Muammer Ugur

aus Palu/Türkei

Berlin 1975

Journal Nr. 854

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547206_0100

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene
und –technologie–Fachrichtung Fleischhygiene –
der Freien Universität Berlin

Das Verhalten antibiotisch wirksamer Rückstände im Fleisch nach Hitze- und Gefrierbehandlung mit Untersuchungen über die Brauchbarkeit verschiedener Teststämme im Agardiffusionstest

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Muammer Ugur

aus Palu/Türkei

Berlin 1975

Journal Nr. 854

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender:	Prof. Dr. H. Loppnow
Referent:	Prof. Dr. G. Reuter
Korreferent:	Prof. Dr. D. Krause

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der Promotion: 20. 6. 1975

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung 1

B. Schrifttum 2

1. Antibiotikaanwendung in der Tierhaltung und in der Lebensmitteltechnologie 2

2. Gefahren für den Menschen durch Antibiotikarückstände im Fleisch schlachtbarer Haustiere 8

3. Verhalten der Antibiotika im Tierkörper intra vitam 12

4. Verhalten der Antibiotikarückstände bei Erhitzung und Kühlung im Tierkörper nach dem Schlachten 16

5. Mikrobiologischer Hemmstofftest 24

C. Eigene Untersuchungen 28

1. Material 28

2. Methodik 30

3. Ergebnisse 37

4. Besprechung der Ergebnisse 61

5. Schlußfolgerungen 66

D. Zusammenfassung 68

E. Literaturverzeichnis 70

A. Einleitung

Der gestiegene Lebensstandard und die daraus resultierenden veränderten Lebensgewohnheiten haben zu einem erhöhten Fleischkonsum geführt. Voraussetzung dafür war eine intensive Massentierhaltung, Diese machte sich die wachstums- und mastleistungsfördernden Wirkungen der Antibiotika und Hormone zunutze, die in zunehmendem Maße in nutritiven Dosen den Futtermitteln zugesetzt wurden.

Erst in jüngerer Zeit haben Pharmakologen, Lebensmittel- und Ernährungssachverständige auf die Gefahren dieser Zusatzstoffe hingewiesen. Aufgrund bekanntgewordener Forschungsergebnisse sowie der publizistischen Aufklärung des Verbrauchers wird heute versucht, die Antibiotikabeifütterung zunächst einzuschränken und sie letztlich, wie bei der Hormonbeifütterung bereits der Fall, vollkommen zu verbieten.

Während sich jedoch in der Literatur zahlreiche Angaben über die Auswirkung der Zusatzstoffe und ihre Nachweisbarkeit finden, ist ihre Beeinflussung durch fleischtechnologische Prozesse noch wenig erforscht. Aus diesem Grund wurde mir die Aufgabe gestellt, das Verhalten der Antibiotikarückstände in gekühltem und tiefgekühltem Fleisch sowie nach unterschiedlich starker Erhitzung zu untersuchen.

Als Nachweismethode sollte der biologische Hemmstofftest benutzt werden, dessen Aussagekraft gegenüber den in Frage kommenden Antibiotika zuvor vergleichend geprüft werden mußte.

B. Schrifttum

1. Antibiotikaanwendung in der Tierhaltung und der Lebensmitteltechnologie

Die Antibiotika haben drei große Verwendungsmöglichkeiten gefunden:

a) in der Therapie und Prophylaxe
b) in der Tierernährung als Nutritivum
c) in der Konservierung von Lebensmitteln tierischer Herkunft, vornehmlich bei Fisch

1. 1. Therapeutische und prophylaktische Antibiotikaverabreichung bei Schlachttieren

Es ist bekannt, daß die Antibiotika in der Veterinärmedizin als Therapeutikum verwendet werden. Nach BERNER (1971) hat die Antibiotikaanwendung zu beeindruckenden Erfolgen geführt. Für die durch Transport, Stallwechsel und Ernährungsumstellung geschwächten Tiere werden neben Vitaminen Antibiotika in prophylaktischen oder therapeutischen Dosierungen empfohlen, um das Auftreten von Diarrhoen in den ersten Wochen der Mast zu verhindern. KEWITZ (1970) fand, daß von allen an Nutztiere verabfolgten Arzneimitteln die Antibiotika am häufigsten verwendet werden, und LIENERT (1970) sprach sich für die Einführung sogenannter Fütterungsantibiotika aus, die er deutlich von denen getrennt wissen will, die in der Therapie Verwendung finden.

1. 2. Nutritive Anwendung der Antibiotika in Futtermitteln

Antibiotika werden außer zu prophylaktischen und therapeutischen Zwecken auch noch aus ernährungsphysiologischen Gründen im Mischfutter verwendet, um eine schnellere Gewichtszunahme zu erreichen. Nach TANGL (1964) beträgt die dadurch bedingte größere Gewichtszunahme bei Schweinen durchschnittlich 8 - 12 %. Werden sie bereits als Saugferkel damit gefüttert, so ist das Absatzgewicht um 2 - 5 kg höher als bei Kontrolltieren.

CATRON (1954) verfütterte seit 1950 fünf Jahre lang Anti-

biotika an 180 Sauen und beobachtete die Zahl der Saugferkel je Wurf und ihre Lebensfähigkeit. Während 1950 die Zahl der Saugferkel sieben je Wurf betrug erhöhte sie sich je Wurf im Jahr 1953 auf 8.3 und 1955 auf 11.5 . Ähnliche Ergebnisse fand REMBOLD (1965). Nach HOJOVEC (1970) ist die Beachtung hygienischer Bedingungen eine wichtige Voraussetzung für die Gewichtszunahme bei der Jungtieraufzucht. Wachstumssteigerungen von 20 % , wie sie anfangs gefunden wurden, sind heute bei verbesserten Milieubedingungen allerdings nur noch selten zu beobachten. Neben der Stall- und Fütterungshygiene hängt die Antibiotikawirkung auch von der qualitativen Zusammensetzung der Futtermischung ab (TIEWS, 1972). Doch dürfte diese heute im allgemeinen als optimal anzusehen sein.

In der Geflügelmast kann durch Zusatz von Antibiotika eine Steigerung der Gewichtszunahme um 10 - 15 % erreicht werden, bei Truthühnern sogar um 25 % . Flavomycin war auch schon in Dosierungen von 1.5 - 5 ppm im Geflügelmast-Alleinfutter um 3.6 % wachstumsverbessernd (TIEWS, 1972).

Allerdings bewirken Antibiotikazugaben vor allem einen Ausgleich für ungünstige Ernährungs- und Umweltverhältnisse, so daß bei genetisch bedingten Kümmerern keine wesentlichen Erfolge zu verzeichnen waren (KIRCHGESSNER & FRIESECKE, 1966).

KAEMMERER (1971) hat für die Faktoren, die für den Wachstumseffekt eine Rolle spielen könnten, ein Schema entworfen, das in Tabelle 1 dargestellt wurde.

Folgende Antibiotika werden in Deutschland für Küken-, Ferkel-, Schweine- und Kälberfutter in nutritiven Dosen verwendet: Oxytetracyclin, Chlortetracyclin, Oleandomycin und Bacitracin (KEWITZ, 1968). Während Chlortetracyclin und Oxytetracyclin bei allen Tierarten appliziert werden dürfen, gilt dies für die Geflügel- und Schweinemast nur für Bacitracin sowie Oleandomycin mit Oxytetracyclin gemischt (MERKENSCHLAGER, 1965).

Da die Verwendung von Antibiotika in Mischfutter bislang schwer kontrollierbar ist und um bestehenden gesundheitlichen Bedenken entgegenzuwirken, schlug die "DFG-Kommission

Tabelle 1

Wirkungsmechanismen der Fütterungsantibiotika nach KAEMMERER (1971)

Darmflora	Stoffwechsel	Prophylaxe gegen Umweltfaktoren
Hemmung nähr- und wirkstoffverbrauchender Darmbakterien, Verschiebung der Darmflora zu Gunsten des Wirtsorganismus, Hemmung von Fäulniskeimen, Aufhebung der Wachstumsdepression durch bakterielle Stoffwechselprodukte, Verringerung der Darmwandstärke	Bessere Verwertung bestimmter Aminosäuren, Zell- bzw. Eiweißvermehrung, Aktivierung der NNR, Aktivierung der Darmmucosa, Verbesserung der Vit. B 1-Resorption	Hemmung toxinbildender Bakterien, Hemmung fakultativ pathogener Darmbakterien, Verhinderung der Ascension bestimmter Dickdarmkeime, Unterstützung des Abwehrprinzips an der Ileocaecalklappe

Steigerung der Gewichtszunahme,
Verbesserung der Futterverwertung,
Stabilisierung des Gesundheitszustandes

zur Prüfung der Zusatzstoffe in der Tierernährung und Tierhaltung" in der Mitteilung III v. 15. 8. 1969 vor, daß die Substanzen, die in der Bundesrepublik Deutschland als Zusatzstoffe für Futtermittel eingesetzt werden, folgenden Anforderungen entsprechen sollten:

a) möglichst geringfügige Resorption aus dem Magen-Darm-Trakt,
b) keine chemischen Veränderungen des resorbierten Anteils im Tierkörper, die das Auffinden von Rückständen erschweren,
c) keine Antigen- oder Hapteneigenschaften, so daß Allergien ausgeschlossen werden könnten,
d) keine Verwendung für die Therapie bei Mensch oder Tier und keine Erzeugung von Kreuzresistenz mit anderen Antibiotika, die in der Therapie eine Rolle spielen (N. N., 1969).

Die Verwendungsmöglichkeit der zugelassenen Antibiotikapräparate wurde in der Neufassung der Normentafel für Mischfutter vom 4. 10. 1973 (Bundesgesetzbl. I, p. 1353) bekanntgegeben. (Tabelle 2 und 3).

1. 3. Antibiotikaanwendung in der Lebensmittelkonservierung

5 - 20 % aller Lebensmittel gehen nach Schätzung von Sachverständigen bis zu ihrem Verbrauch durch Verderbnis verloren. Beim Verderb von Lebensmitteln sind gram-positive wie gram-negative Keimarten beteiligt. Um die Vermehrung von Mikroorganismen in Lebensmitteln zu unterdrücken, wurden die klassischen Konservierungsmittel teilweise auch durch die Anwendung von Antibiotika ersetzt.

Bei der Fleischgewinnung wurden Antibiotika auf verschiedene Art und Weise eingemischt:

a) Zusatz von Antibiotika zum Futter der zur Fleischgewinnung dienenden Tiere
b) Fütterung von Antibiotika kurz vor der Schlachtung
c) Intravenöse Injektion von Antibiotika kurz vor der Schlachtung
d) Infusion des Schlachttierkörpers mit Antibiotika nach

Tabelle 2

Antibiotika - Dosierungsrahmen für Schweine (in ppm)

(nach der Normentafel für Mischfuttermittel, Stand Oktober 1973)

	OTC / CTC	Flavo-mycin	Oleando-mycin	Tylosin	Virgi-niamycin	Baci-tracin
Milchaustauschfutter für Ferkel	5 - 80	1 - 20	10 - 50	5 - 20	5 - 80	5 - 80
Ergänzungsfutter für Saugferkel	+)	5 - 100	25 - 125	50 - 200	50 - 250	50 - 250
Ferkelaufzuchtfutter	5 - 50	1 - 20	5 - 25	10 - 40	10 - 50	10 - 50
Mast - Alleinfutter I	-	1 - 20	2 - 10	5 - 20	5 - 20	5 - 20
Mast - Alleinfutter II	-	1 - 20	2 - 10	5 - 20	5 - 20	5 - 20
Alleinfutter für niedertragende Zuchtsauen	-	-	4 - 10	-	-	-
Mast-Ergänzungsfutter	-	2 - 80	4 - 10	10 - 80	10 - 80	10 - 80
Mast-Ergänzungsfutter zu eiweißreichen Futtermitteln	-	2 - 80	-	10 - 80	10 - 80	10 - 80
Eiweißkonzentrat	-	5 - 200	10 - 100	25 - 200	25 - 200	25 - 200
Eiweißreiches Ergänzungsfutter	-	4 - 160	8 - 80	20 - 160	20 - 160	20 - 160
Mineralfutter	-	40 - 1000	80 - 500	200-1000	200-1000	200-1000

+) = OTC (Oxytetracyclin) : 25 - 250 ; CTC (Chlortetracyclin) : 25 - 50

Tabelle 3

Antibiotika - Dosierungsrahmen für Kälber (in ppm)

(nach der Normentafel für Mischfuttermittel, Stand Oktober 1973)

	OTC	CTC	Flavo-mycin	Baci-tracin
Milchaustauschfutter I für Mast	5 - 80	5 - 80	8 - 16	5 - 80
Milchaustauschfutter II für Mast	-	-	8 - 16	5 - 80
Milchaustauschfutter für Aufzucht	5 - 80	5 - 80	8 - 16	5 - 80
Ergänzungsfutter zu Magermilch für Mast	10 - 100	10 - 160	16 - 32	10 - 160
Ergänzungsfutter zu Magermilch für Aufzucht	100 - 1000	100 - 1000	25 - 100	100 - 1000
Aufzuchtfutter	10 - 40	10 - 40	12 - 32	-
Nährmehl	10 - 40	10 - 40	12 - 32	-

OTC = Oxytetracyclin

CTC = Chlortetracyclin

der Schlachtung unter Verwendung des Blutgefäßsystems

e) Zusatz von Antibiotika zum Fleisch im Verlauf des Verarbeitungsprozesses oder zum Fertigprodukt (KRÜCKEN, 1957).

Für die Konservierung wurden Breitspektrumantibiotika verwandt. Eine relativ breite Anwendung fanden bei der Konservierung der Fische die Tetracycline (SCHWEISHEIMER, 1960; ZÄHNER, 1971), bei Geflügelfleisch Aureomycin (MÜLLER, 1962) und bei Milch Terramycin. Als besonders geeignete Antibiotika für Fleischkonserven erwiesen sich die Chlortetracycline (Aureomycin), die Oxytetracycline (Terramycin) und Chloramphenicol (Chloromycetin) (SCHWEISHEIMER, 1960; BERKMEN, 1965). Nach dem deutschen Lebensmittelrecht ist die Anwendung der Antibiotika in Lebensmitteln untersagt. So ist es nach § 4 a verboten, Lebensmitteln fremde Stoffe zuzusetzen, ohne daß sie dazu ausdrücklich zugelassen sind, und nach § 4 b Abs. 1 "Tieren vor der Schlachtung Antibiotika zu verabfolgen, um die Haltbarkeit des Fleisches zu beeinflussen".

Die Rückstände des Antibiotikums bei der Herstellung der Fleischkonserven sind abhängig von der Menge des Antibiotikums, der Höhe und Dauer der Erhitzung sowie der Dauer der Lagerung (CORETTI, 1961).

Die Chlortetracyclin-Rückstände im Schweinefleisch wurden durch die technologischen Verfahren bei der Verarbeitung von Fleisch zu Fleischerzeugnissen verringert (WOLTERSDORF et al., 1973). Hinsichtlich der Gefährdung des Konsumenten erscheint die Verwendung von Antibiotika in der Lebensmittelkonservierung von größerer Bedeutung als die in der Tierernährung, da der Mensch durch die Lebensmittel mit diesen Stoffen verstärkt in Berührung kommt (ZÄHNER, 1971).

2. Gefahren für den Menschen durch Antibiotikarückstände im Fleisch schlachtbarer Haustiere

PICHNARCIK et al. (1969) stellten folgende Gefahren für den Menschen heraus:

a) toxische Erscheinungen durch chemische Metaboliten der Antibiotika aus Lebensmitteln (Muskulatur und

Organe schlachtbarer Haustiere),

b) allergische Erscheinungen durch Antigen- und Hapteneigenschaften der Antibiotika,

c) Veränderung der Darmflora und der Darmwand beim Menschen,

d) Maskierung der für den Menschen pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln, die von mit Antibiotika behandelten Schlachttieren gewonnen wurden,

e) Resistentwerden pathogener und apathogener Mikroorganismen,

f) Verbreitung chemoresistenter Krankheitserreger,

g) Verringerung der Behandlungsmöglichkeiten beim Menschen durch die Verbreitung chemoresistenter Krankheitserreger, namentlich aus der Familie der Enterobacteriaceae sowie anderer Zooanthroponosenerreger.

Allergien zeigen sich nach wiederholter Therapie mit demselben Antibiotikum und durch orale Aufnahme antibiotikahaltiger Lebensmittel (BISPING, 1962). Jedes Antibiotikum hat Eigenschaften mit sensibilisierenden Wirkungen, allerdings reagieren nicht alle Menschen gleicherweise empfindlich (KNOTHE, 1967). Antibiotikaallergien können vielschichtig sein. Es gibt Allergien vom Soforttyp, Spättyp und sogenannte anaphylaktoide Reaktionen. Dieses hängt von dem chemischen Aufbau , der Quantität, der Empfindlichkeit und dem Aufnahmemodus ab. Alle drei Formen können auch von antibiotikahaltigen Arzneimitteln oder antibiotikahaltigen Futtermitteln verursacht werden (MAYR & BIBRACK, 1969). Wie beim Menschen treten bei Verabreichung von Penicillin und Streptomycin auch bei 1 - 10 % der Tiere Allergien auf und bei Verabreichung von Tetracyclin bei 1 - 2 % ; dies hängt jedoch stark vom Applikationsmodus ab (MAYR, 1969). FORCK (1971) fand eine Versechsfachung der Chloramphenicol-Allergie bei Menschen in 5 Jahren (1965 - 1970). Durch noch stärkere Anwendung von Chloramphenicol wurde die Tendenz zur Sensibilisierung weiter gesteigert. Der Mensch reagiert stärker allergisch als das Tier (KNOTHE, 1967). Allergische Erscheinungen durch Antibiotika können in schweren Fällen bis zum Tode führen.

Von allen antibiotischen Präparaten wirken Penicillin und Streptomycin am stärksten allergen. Tetracycline einschließlich Chlor- und Oxytetracyclin haben dagegen ein sehr niedriges Sensibilisierungsvermögen (BISPING, 1962).

Aus der gehäuften Verabreichung von Antibiotika ergibt sich das Problem der mikrobiellen Resistenz und zwar sowohl bei therapeutischen, prophylaktischen als auch nutritiven Dosen. GERLACH (1967) sieht bei dem Mechanismus der Resistenzbildung verschiedene Vorgänge:

a) Veränderungen des Genotyps: sie äußern sich durch Mutation, Transformation, Transduktion und plasmatische Vererbung
b) Veränderungen des Phänotyps: sie erklären sich aus der Induktion von Enzymbildung, dem Verlust von Zellorganellen und der Blockierung von Enzymen.

Der Mechanismus der extrachromosomalen Antibiotikaresistenz wird bei gram-negativen Bakterien durch ein genetisches Element bestimmt, das neben dem Chromosom in der Bakterienzelle vorhanden sein kann. Es zählt zu der Gruppe der Konjugationsfaktoren für infektiöse Vererbung und wird R-Faktor genannt. Der R-Faktor bildet sich durch den Resistenzübertragungsfaktor (RTF), der auch den Resistenzdeterminanten trägt (WATANABE et al., 1960). Der R-Faktor kann seine Trägerzelle zur chromosomalen Übertragung auf eine Nachbarzelle und dadurch zu Kreuzungen befähigen (LEBEK, 1970). R-Faktoren ließen sich in vivo und in vitro von coliformen Stämmen auf Salmonellenbakterien übertragen (BULLING & STEPHAN, 1971). Beim Menschen konnten in der Darmflora zu 85 % resistente Enterobakterien nachgewiesen werden, von denen wiederum 40 % R-Faktoren-Träger waren. Beim Nutztier findet man bis zu 100 % R-Faktor-tragende Enterobakteriaceen (KNOTHE, 1971). Dabei ist ein ständiger Anstieg der Resistenz verschiedener Keimgruppen zu beobachten (LINZENMEYER, 1967; BULLING et al., 1968), wobei man annimmt, daß durch die Behandlung und Fütterung mit Antibiotika eine Selektion resistenter Keime stattfindet. Zahlreiche Untersuchungen ergaben eine relativ hohe Resistenz gegen Streptomycin und Tetracyclin. Daß durch die

Applikation mehrerer Antibiotika auch ein entsprechendes übertragbares Resistenzspektrum erzielt werden kann, hat KNOTHE (1971) angedeutet. Solche mehrfachresistenten Salmonellen, vor allem Stämme von S. typhimurium, sind beim Nutztier nachgewiesen worden.

Unter dem Einfluß der Antibiotikabeifütterung fanden BULLING & STEPHAN (1970) eine Selektion primär resistenter Darmkeime, die zudem in hohem Maße übertragbar waren. ZAHNER (1971) geht zwar davon aus, daß eine Zunahme antibiotikaresistenter Staphylokokken schon vor der Verwendung von Antibiotika in der Tierernährung erfolgte, erkennt jedoch die Korrelation von Antibiotikaverfütterung und der Verbreitung multiresistenter Enterobacteriaceae an. Auch KUSCH et al. (1972) nehmen eine Resistenzbildung gegenüber Tetracyclinen, die mit dem Futter aufgenommen werden, bei Staphylokokken an.

Durch die permanente Unterdrückung des Keimwachstums ist der Nachweis von pathogenen Keimen erschwert. Es steht fest, daß durch die Rückstände der dem Tier verabreichten Arzneimittel die bakteriologische Fleischuntersuchung problematisch geworden ist. CLARENBURG & KAMPELMACHER (1957) berichteten über einen Fall von Milzbrand bei einem 2 1/2jährigen Rind, das 10 Tage lang mit 10 ml des Präparates Depomycin (Penicillin und Streptomycin) behandelt worden war. Es war wegen Milzbrandverdacht bakteriologisch untersucht worden, wobei sich eine Wachstumsverzögerung von Bac. anthracis feststellen ließ. MEYER (1969), LORENZEN (1967), BONFERT & BERRANG (1969), KLIMA (1966), DEDEK et al. (1971), FOLTIN (1960) und TAKACZ (1969) konnten nachweisen, daß das Wachstum pathogener Keime, insbesondere von Milzbrandbazillen und Salmonellen, durch Antibiotikarückstande im Fleisch unterdrückt wurde. MEYN et al. (1960) konnten bei der bakteriologischen Untersuchung von Kälbern keine Wachstumshemmung feststellen, wenn die Antibiotika mit der üblichen Dosis von 80 ppm im Futter verabreicht worden waren. Bei notwendigerweise höheren therapeutischen Dosen können hingegen Verzögerungen auftreten. Auch GEMMER (1968) stellte in einem Fall fest, daß der schwache bakteriologische Befund und das atypische Verhalten der Milzbrandkolonien auf Agar auf eine vorangegan-

gene und im Labor nachgewiesene Antibiotikabehandlung zurückzuführen war. Sowohl KIND (1965) als auch MEYER et al. (1969) sind der Ansicht, daß Antibiotika nachweislich das Ergebnis der bakteriologischen Fleischuntersuchung beeinflussen.

3. Verhalten der Antibiotika im Tierkörper intra vitam

Die Verweildauer der Antibiotika im tierischen Organismus hängt von der Struktur, dem Applikationsweg, der Dosierung und vom Individuum ab. Eine Übersicht über die Resorptions- und Ausscheidungsverhältnisse von Antibiotika wurde nach den Angaben von SCHUMACHER (1962), KRAUSHAAR (1965), WALTER & HEILMEYER (1969), N.N. (1969), GOODMAN & GILMAN (1970) und KUSCHINSKY & LÜLLMANN (1974) zusammengestellt. Diese Werte erscheinen wichtig für Aussagen über die Antibiotikakonzentrationen, die im Fleisch schlachtbarer Haustiere als Rückstände zu erwarten sind. Die Gesamtausscheidungsdauer ist dabei für die Festsetzung von Wartefristen für die Zeit bis zur Schlachtung von Bedeutung. Angaben darüber liegen vor, wenn sie auch noch nicht ganz vollständig sind. Sie wurden in der Tabelle 4 zusammengefaßt.

Durch subkutane Applikation von 20.000 IE Procain-Penicillin pro kg konnte nach LORENZ (1957) sowie GRATZL & JAKSCH (1952) die Blutspiegeldauer auf 12 - 14 Stunden verlängert werden. LOFTSGAARD et al. (1970) haben festgestellt, daß bei einer Dosierung von 8.000 IE/kg Kgw. Penicillin, i.m. an Schweine verabreicht, dieses nach 11 Tagen nicht mehr im Gewebe nachzuweisen war, während bei einer Applikation von 12.000 IE/kg noch nach 14 Tagen Rückstände in der Niere gefunden werden konnten. Bei Schafen wandte MITSCHERLICH (1960) verschiedene Dosierungen von zwei Depotpenicillinen an. Dabei stellte er bei beiden Präparaten fest, daß dieselbe Dosierung pro Kilogramm bei verschiedenen Schafen zu Blutspiegeln von recht unterschiedlicher Dauer führen kann. PILZ & KAUFMANN (1956) benutzten bei ihren umfangreichen Untersuchungen mit Tardomyocel (Penicillin) die Erkenntnis, daß eine Verteilung der Gesamtdosis auf mehrere Injektionsstellen zu hohen Initialblutspiegelwerten führt, weil die Resorptionsfläche vergrößert wurde. Dabei fanden sie, daß

Tabelle 4

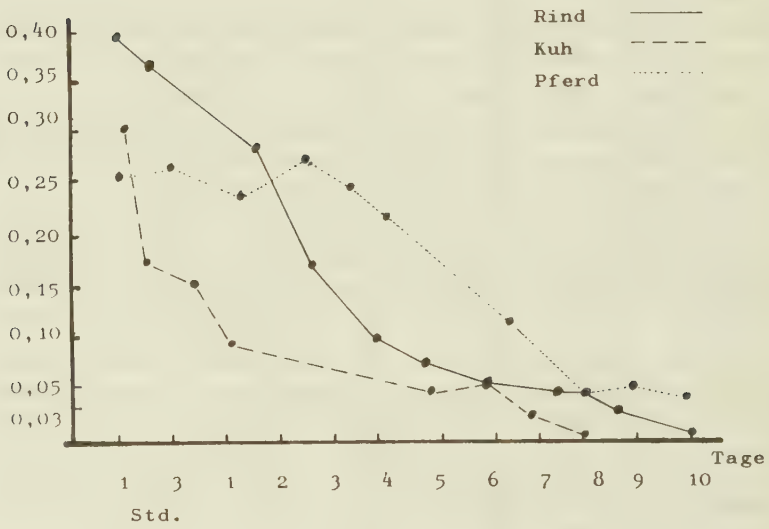
Resorption und Ausscheidung verschiedener Antibiotika nach oraler, i.m. und i.v. Applikation

	Applikationsart	Resorption im Körper	Abbau bzw. Ausscheidung aus dem Körper in 12 Std., in %			
			Galle	Niere	Harn	Faeces
Oxytetracyclin	oral		15 - 25			
	i.m.	+	40 - 60			
	i.v.		70			
Tetracyclin	oral		15 - 25			
	i.m.	+	40 - 60			
	i.v		60			
Chlortetracyclin	oral		10 -15			
	i.m.	+	40 - 60			
	i.v.		18			
Bacitracin	oral	-				hohe Konz.
Streptomycin	oral	(+)				+
	i.m.	+		50-60		
	i.v.					
Penicillin	oral	(+)		+		
	i.m.	+		70-80		
	i.v.					
Oleandomycin	oral			8-14		
	i.m.	+		14-17		
	i.v.			24-30		
Flavomycin	oral	-				+
	i.m.	+			+	
	i.v.					
Chloramphenicol	oral					
	i.m.	+		50-70		
	i.v.					

ein therapeutisch wirksamer Penicillinblutspiegel von mindestens o.oo3 Einheiten Penicillin pro ccm Serum über eine Zeitspanne von 6 - 10 Tagen bestehen blieb (Tabelle 5).

Tabelle 5

Tardomyocel (-Penicillin) - Blutspiegel
nach PILZ & KAUFMANN (1956)



Dieselben Autoren beobachteten bei ihren Versuchen an Rindern weiterhin, daß sich bei Dosiserhöhungen der therapeutische Blutspiegel proportional verhielt. Sie konnten dadurch eine erwünschte Verlängerung des therapeutischen Blutspiegels erreichen.

Dauer des wirksamen Blutspiegels	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage
Tardomyocel I.E./kg Kgw.	8ooo	10-11ooo	13-14ooo	16ooo

Nach parenteraler Applikation von Debicillin (Penicillin) fanden ROLINSKI & FIDECA (1962) beim Schwein bakteriostatisch wirksame Blutspiegelwerte über 5 Tage. Nach i.m. Applikation von 10.000 E./kg Kgw. Debezillin wenige Stunden vor der Schlachtung konnten SLUZEWSKI & KLINKA (1965) dieses bis zu drei Tagen im Muskelgewebe und bis zu 7 Tagen in den Organen feststellen. BLOBEL & BURCH (1960) stellten nach i.m. Injektion von Penicillin oder Oxytetracyclin hohe Blutspiegelwerte über zwei Tage fest. HAHN (1959) konnte nach i.m. Verabreichung von 10.000 I.E./kg Kgw. in Streptomycel-Öl I enthaltenem Procain-Penicillin G einen positiven Penicillinblutspiegel nur zwischen der 8. bis 12. Stunde p.i. nachweisen. GRATZL & SZUMLAKOWSKI (1953) konnten bei einer Dosierung von 0.003 g/kg Kgw. von Streptomycin in 33 %iger Konzentration bei Rindern eine Spiegeldauer von 48 - 54 Stunden erzielen. VONDERBANK (1956) beobachtete zwei bis 6 Stunden nach Verabreichung von Chloramphenicol i.m. Maximalwerte und in der Niere nach 24 - 26 Stunden geringere. Mit diesen Ergebnissen stimmten die Angaben von KRAUSHAAR (1965) überein, daß Chloramphenicol 30 Minuten nach oraler Verabreichung im Blut nachweisbar war. Das Maximum wurde in ca. 2 Stunden erreicht und nach einigen Stunden war eine weitgehende Ausscheidung erfolgt. ZAKORDONEK (1966) hatte Tetracyclin i.m., i.v. und oral in den Dosen 10.000 I.E./kg Körpergewicht einmalig appliziert. Am langsten blieb es im Blut nach i.m. Injektion. TAYLOR (1955) ermittelte, daß nach täglicher Verfütterung von zweimal 100 mg Aureomycin (Tetracyclin) an Kälber die höchsten Blutspiegel nach 3 Stunden von 0.061 mcg/ml und nach 24 Stunden nur noch von 0.035 mcg pro ml festgestellt wurden. MEYN et al. (1960) führten einen Versuch mit Aureomycin an Kälbern durch, die 80 - 90 mg/kg Futter drei Wochen lang täglich erhielten. Nach der Schlachtung lagen Aureomycin-Spiegelwerte im Serum bzw. in der Muskulatur und Milz unter 0.01 mcg/ml bzw. mcg/g. RUSOFF et al. (1954/1955) fanden beim Kalb nach wöchentlichen Injektionen von 400 mg Chlortetracyclin einen Gehalt im Blutplasma von weniger als 0.1 mcg/ml, in der Leber von 0.71 mcg/g, in der Galle von 0.565 mcg/ml, im Urin von 2.322 mcg/ml und in der Niere von 1.1 mcg/g. BRÜGGEMANN et al. (1963) ermittelten,

daß nach 15tägiger Verabreichung von mit 50 mg Chlortetracyclin je kg versetztem Futtermittel an Legehennen in der Leber 4.7 mcg/g, in den Nieren 5.o mcg/g, in der Muskulatur 7.1 mcg/g vorlagen. KALICH & MERKENSCHLAGER (1958) hatten bei Verfütterung von zweimal 25 mg/kg Kgw. Aureomycin im Abstand von 2 Wochen an Mäuse die Blutspiegelwerte o.24 - o.52 mcg/ml und in der Leber Werte von o.71 - o.74 mcg/g ermittelt. 10 Tage lang wurden Versuchsschweine mit einer Chlortetracyclin-Futtermischung so gefüttert, daß das erste Tier 87.5 mg, das 2. 155 mg und das 3. 1440 mg Chlortetracyclin pro kg Futter erhielt. Drei Stunden nach der letzten Applikation wurde von HOLEC & PLEVA (1967) Chlortetracyclin im Blut und im Gewebe in folgenden Mengen nachgewiesen (Tabelle 6).

Tabelle 6

Versuchsschwein Nr.	1	2	3
Verabreichte Menge CTC (in mg/kg Futter)	87.5	155.o	1440.o
Nachgewiesene Menge (in mcg/g bzw. mcg/ml)			
Blut	-	-	2.2oo
Kotelett	o.19o	o.28o	1.7oo
Leber	o.218	o.36o	3.55o
Niere	o.8oo	o.98o	9.7oo

4. Verhalten der Antibiotikarückstände bei Erhitzung und Kühlung im Tierkörper nach dem Schlachten

In den vorigen Kapiteln wurde dargelegt, wie Antibiotika in die Lebensmittel tierischer Herkunft gelangen können. Es stellt sich das Problem, wie die darauf zurückzuführenden Antibiotikarückstände auf thermische Einflüsse reagieren und ob dabei eine Abhängigkeit von der Art des enthaltenen Antibiotikums besteht. Allerdings kann der meßbare Inaktivierungsgrad nicht mit dem nach thermischer Behandlung antibiotikahaltiger Lebensmittel zu beobachtenden gleichge-

setzt werden, da der Wirkungsverlust von Antibiotika in Lebensmitteln neben der Erhitzungstemperatur und -dauer von der Art des Lebensmittels, vom pH-Wert und vom Vorhandensein bestimmter Ionen abhängt (SCHEIBNER, 1972). TARR et al. (1954) und DIEMAIR & RODDER (1960) kamen überein, daß die Antibiotika beim Erhitzen in verschiedenen Medien verschiedene Reaktionen zeigen.

Die in der vorliegenden Literatur beschriebenen Untersuchungen über den Hitzeeinfluß auf die Antibiotika befassen sich weitgehend mit dem Verhalten in der Milch. FOSTER & WOODRUFF (1943) fanden beim Penicillin, erhitzt auf 65 °C für 30 min., Aktivitätsverluste, die zwischen 5 und 30 % schwankten. HOOD & KATZNELSON (1949), DEAN (1950) und KRIENKE & FOUTS (1950) stellten fest, daß Penicillin bei einer 30minütigen Erhitzung der Milch bei 65 °C nicht inaktiviert wird. SHAHANI et al. (1954) fügten der Milch vor der Erhitzung auf 61 °C/30 min. verschiedene Arten von Streptomycin zu und stellten fest, daß es zu sehr unterschiedlichen Aktivitätsverlusten kam. Danach erhitzten sie die mit Streptomycin angereicherte Milch auf verschiedene Temperaturen und beobachteten bei 61 °C/30 min. eine 14.8 %ige, bei 71 °C/30 min. eine 22.8 %ige und bei 75 °C/15 min. eine 20.6 %ige Aktivitätsabnahme. SHAHANI et al. (1956) führten Versuche durch, um eine völlige Inaktivierung von Penicillin in der Milch zu erreichen. Sie benötigten dazu bei 71 °C 1705 Minuten, bei 87.7 °C 420 Minuten, bei 93.3 °C 230 Minuten und bei 121.1 °C 25 Minuten. Weiterhin fanden sie bei der Erhitzung auf 61 °C/30 min., daß die verschiedenen Penicillin-Arten auch verschieden empfindlich gegen die Hitze reagierten. Schließlich konnten auch Abweichungen bei der Erhitzung auf 71.1 °C/30 min. in Milch, Phosphatpuffer (pH 6.0) und in Wasser (pH 6.6) ermittelt werden, wobei sich für den Versuch in Milch Verluste von 10.1 %, in Phosphatpuffer von 34 % und in Wasser von 100 % ergaben. BECKER (1966) fand heraus, daß in die Milch eingemischtes Penicillin und Streptomycin durch die Kurzerhitzung, d.h. eine Temperatur von 71 - 74 °C über 40 - 45 Sekunden, zum größten Teil zerstört wurde. HAUKE (1968) führte Untersuchungen zur Inaktivierung antibiotika-

haltiger Milch durch, wobei es bei penicillinhaltiger Milch bei Temperaturen von 71 - 86 °C und Heißhaltezeiten von 10 bis 100 Sekunden zu keiner Verminderung des Penicillingehaltes kam, während bei streptomycinhaltiger Milch bei einer Temperatur-Zeit-Kombination von 81 - 86 °C und 90 - 100 Sekunden eine 10 %ige Abnahme des Streptomycingehaltes und bei oxytetracyclinhaltiger Milch bei 73 - 86 °C und 80 - 100 Sekunden eine 20 %ige Abnahme des Oxytetracyclingehaltes ermittelt wurde. SHAHANI (1957) erhitzte Milch mit einem Aureomycin-Gehalt von o.24 - o.38 mcg/ml und konnte eine vollständige Inaktivierung bei 71.1 °C innerhalb von 280 Minuten bzw. bei 85 °C nach 90 Minuten, bei 93.3 °C nach 50 Minuten und bei 98 °C nach 30 Minuten beobachten. Bei Vergleichsuntersuchungen kam er zu dem Ergebnis, daß Aureomycin im allgemeinen am hitzestabilsten in Milch, dann in Phosphatpuffer und am wenigsten stabil in Wasser war, wie aus Tabelle 7 ersichtlich ist.

Tabelle 7

Aktivitätsverluste (in %) von Aureomycin in Milch, Phosphatpuffer und Wasser nach Hitzebehandlung (nach SHAHANI, 1957)

Medium	Milch	Puffer	Wasser	Milch	Puffer	Wasser
Temperatur (°C)	61.o			71.o		
10 Min.	9.3	9.9	14.o	13.5	17.2	24.2
20 Min.	14.2	18.o	23.7	20.1	31.6	46.3
50 Min.	25.4	38.9	48.3	38.2	55.1	100.o

Entsprechende Versuche desselben Autors (1958) mit Oxytetracyclin erbrachten eine völlige Inaktivierung schon bei einer Erhitzung auf 71 °C/90 min. . DIEMAIR & RÖDDER (1960) führten zum Nachweis der Hitzeinaktivierung Versuche mit Aureomycin

in wäßriger, gepufferter Lösung und in Vollmilch durch. Es ergab sich, daß durch eine Erhitzungszeit von 30 Minuten eine vollständige Inaktivierung nicht erreicht werden konnte. PILET & TOMA (1969) untersuchten die Hitzebeständigkeit verschiedener Antibiotika im destillierten Wasser (pH 5.4), in Bouillon (pH 7.o), in Milch und im Hühnermuskelextrakt im Blättchentest. Die Versuche ergaben, daß nach einer Erhitzung auf 100 °C/30 min. Penicillin zu 50 % seine Aktivität verlor und Tetracyclin zu 100 % . Eine Ausnahme bildete dabei die Milch, die sich auf Penicillin als schützendes Medium auswirkte. Neomycin zeigte sich besonders hitzestabil; jedoch wurde in der Milch im Gegensatz zu den anderen Antibiotika die Zerstörung durch Erhitzung begünstigt. Spiramycin, Framycetin und Oleandomycin erwiesen sich in den Versuchen am hitzestabilsten (Tabelle 8).

Tabelle 8

Prozentsatz der Aktivitätsverluste einiger Antibiotika, erhitzt auf 100 °C / 30 min. (nach PILET & TOMA)

Medium	A. dest.	Bouillon	Milch	Hühner-extrakt
Penicillin	50	35	20	80
Tetracyclin	100	100	100	100
Neomycin	25	25 - 50	15 - 50	50
Oleandomycin	60 - 100	50	60 - 100	70
Spiramycin	0 - 30	0 - 30	0 - 20	0 - 50

Nach Beobachtungen von BOHONOS et al. (1953/1954) zeigte sich ein gravierender Unterschied im Verhalten von Tetracyclin und Oleandomycin bei erhöhten Temperaturen. Bei der Erhitzung von 10 mcg/ml in Phosphatpuffer auf 100 °C/15 min. wurden bei pH 7.o oder pH 9.o 86 % Oxytetracyclin, 98 % Chlortetracyclin und 67 % Tetracyclin zerstört. MARTEN et al. (1966) erhitzten einen Calcium-di-Oxytetracyclin-Komplex in

wäßriger Suspension von o.1 mg Oxytetracyclin. Über verschiedene Zeiträume waren im Hemmstofftest folgende Oxytetracyclinrückstände nachweisbar:

nach	10 Minuten	95.o %
"	30 "	60.9 %
"	60 "	35.5 %
"	120 "	20.4 %
"	180 "	12.7 %

PICHNARCIK et al. (1969) berichteten, daß Bacitracin, Oxytetracyclin, Chlortetracyclin, Tetracyclin in Reinsubstanzlösungen bei 100 °C/20 min. und bei Wahrung des optimalen pH-Bereiches durch den Kochprozeß nicht zerstört wurden. WALTER & HEILMEYER (1969) führten für die Hitzeempfindlichkeit einzelner Antibiotika folgende Werte an:

Oxytetracyclin	100 °C	Inaktivierung nach 4.5 Min.
Chlortetracyclin	100 °C	" " 2.1 "
Tetracyclin	100 °C	" " 1.o "
Bacitracin	55 °C	rasche Inaktivierung
Streptomycin	70 °C	30 Min.: keine Inaktivierung
"	100 °C	10 Min.: 50 % Inaktivierung
Chloramphenicol	100 °C	in wäßriger Lsg.: 5 Std. stabil

DAKIC & PERIC (1973) konnten nach Erhitzung von Tetracyclin und Oxytetracyclin-Hydrochlorid bei einer Temperatur von 70 °C, 80 °C, 90 °C und 100 °C in Phosphatpuffer-Lösungen ermitteln, daß durch Zunahme der Temperatur die biologische Aktivität der Antibiotika rasch abnahm. ESCANILLA et al. (1959) setzten dem Brät von Frankfurter Würstchen 15.3 oder 45.o mcg/g Chlortetracyclin zu. Nach dem Räucher- und Brühvorgang blieben noch 15 % der zugesetzten Antibiotikamenge zurück. Beim anschließenden Kochen ging davon erneut die Hälfte verloren, so daß insgesamt nur noch ca. 7 % Chlortetracyclin verblieben. TERPLAN (1960) konnte 1 mcg Tetracyclin in Fleischkonserven bei einer Erhitzung auf 117 °C nicht inaktivieren. CORETTI (1961) untersuchte die Hitzestabilität

von Aureomycin, Penicillin und Streptomycin in Brühwurstbrät und Dosenwürstchen. Für die Untersuchung fügte er den Medien 5, 10, 25 und 50 mcg/g der Antibiotika zu. Bei einer 30- und 90-minutigen Erhitzung auf 80 °C, 90 °C, 100 °C und 117 °C konnte er bei Aureomycin nur im letzteren Fall keine Rückstände mehr nachweisen, während Penicillin und Streptomycin bereits nach 30 Minuten bei 100 °C inaktiviert worden waren. Bei niedrigen Temperaturen waren Rückstände in der Wurst nachweisbar. SCHEIBNER (1972) setzte Penicillin-haltige Präparate (Ursopen, Penicillin G) und tetracyclinhaltige Präparate (Ursozyklin) und Streptomycin kurz vor Beendigung des Kutterungsprozesses den Würsten zu. Diese wurden bei 90 °C bis 100 °C für 40 Minuten heißgeräuchert und anschließend bei 78 - 80 °C 45 Minuten gebrüht. Danach war festzustellen, daß Penicillin zu 52 - 58 %, Ursopen zu 81 - 83 %, Tetracyclin zu 72 % und Streptomycin zu 55 % inaktiviert worden waren. Zusätzlich konnte eine Abhängigkeit von der Wurstart und Wärmebehandlung beobachtet werden. Um die Hitzestabilität verschiedener Antibiotika zu prüfen, setzte v. SCHOTHORST (1969) diese bei pH 5.8 - 6.1 dem Fleisch zu. Die verpackten Fleischproben wurden verschieden lang bei 60 °, 70 °C, 80 °C, 90 °C und 100 °C im Wasserbad erhitzt. Oxytetracyclin, Chlortetracyclin und Penicillin wurden bei 100 °C schon schnell inaktiviert, wobei sich Penicillin als besonders hitzeempfindlich erwies. Chloramphenicol konnte bei Temperaturen bis 80 °C in keinem Fall inaktiviert werden und Streptomycin erlitt selbst nach 20minütiger Erhitzung auf 100 °C keine Aktivitätsverluste. LUKASS (1971) ermittelte für Penicillin, Oxytetracyclin, Chlortetracyclin, Tetracyclin, Bacitracin und Chloramphenicol in Phosphatpuffer folgende zur völligen Inaktivierung notwendige Temperaturen und Zeiten:

Oxytetracyclin	(o.1 mcg/o.1 ml)	75 °C / 60 min.
Chlortetracyclin	dto.	75 °C / 120 min.
Tetracyclin	dto.	90 °C / 120 min.
Penicillin	dto.	100 °C / 120 min.
Bacitracin	(10.o mcg/o.1 ml)	75 °C / 120 min.
Chloramphenicol	dto.	100 °C / 120 min. +)

+) bei Chloramphenicol konnte nach der angegebenen Behandlung nur eine Aktivitätsabnahme von 30 % ermittelt werden.

Um bei antibiotikahaltigen Organ- und Fleischproben eine völlige Hemmstoffinaktivierung zu erzielen, mußten die Proben wie folgt erhitzt werden:

Kälbernieren	90°C / 120 min.
Kälberlebern	75°C / 120 min.
Kalbfleisch	65°C / 120 min.

Die Proben waren mit Tetracyclinen bzw. TC-Gemischen behandelt, über die Dosis konnte der Autor keine Angaben machen.

BROQUIST & KOHLER (1953) ermittelten, daß bei einer Erhitzung von Hühnerfleisch auf 230°C/15 min. das Chlortetracyclin zerstört wurde, wobei das Fleisch jedoch nicht mehr als o.3 mcg/g des Antibiotikums enthielten. KOHLER et al. (1955) tauchten Hähnchenmuskulatur in Lösungen mit Konzentrationen von 3, 10 und 30 mcg/ml Aureomycin. Nachdem sie das Fleisch 15 Minuten gekocht oder 30 Minuten geröstet hatten, konnten sie keine Antibiotikarückstände mehr nachweisen. Wurde das Fleisch in Lösungen mit höheren Konzentrationen getaucht, so brauchte man eine entsprechend längere Koch- bzw. Röstzeit, um einen völligen Aktivitätsverlust zu erzielen. ABBEY et al. (1956) tauchten Hühnerfleisch über 24 Stunden in Lösungen mit 10, 30 und 300 mgc/ml Chlortetracyclin. Nach Erhitzung auf 52°C und 60°C stellte sich eine völlige Inaktivierung nur bei dem in die 10 und 30 mgc je ml enthaltenden Tetracyclin-Lösungen getauchten Fleisch ein. HOLEC (1963) erhitzte chlortetracyclinhaltiges Fleisch auf 70°C und 98°C. Nach der Erhitzung wies er noch einen Rückstand von 1 - 3 % des physiologisch aktiven Antibiotikums nach. MEREDITH (1965) gab dem Kükenfutter 1000 ppm Oxytetracyclin und Chlortetracyclin bei. Nach dem Kochen und Braten konnten keine Rückstände mehr nachgewiesen werden. SCHEIBNER (1969) fand heraus, daß die antibiotische Aktivität von Sulfastreptipen (Penicillin und Streptomycin) im Fleisch bei 60°C nach 20-, 40- und 60-minütiger Erhitzung nicht zerstört wurde. Bei 70°C, 80°C und 90°C in den entsprechenden Zeiträumen nahm die antibiotische Aktivität stark ab, nach 90°C/20 min. kam es zu einer völligen Inaktivierung. SMEJKAL et al. (1973) ermittelten, daß Zink-

Bacitracin enthaltendes Broiler-Fleisch bei einer Erhitzung auf 118 °C bis 121 °C/15 min. seine Hemmwirkungen zu 30 % verlor, während Chlortetracyclin bei einer Temperatur über 100 °C/15 min. völlig inaktiviert werden konnte. IONOVA (1973) zeigte, daß Tetracyclin und Oxytetracyclin im Geflügelfleisch in 40 - 60 Minuten ihre biologische Aktivität durch Strukturveränderungen der Moleküle sowie durch Umwandlung in isomere Formen verlieren. WOLTERSDORF & SCHMIDT (1973) erhitzten Schweinefleisch mit einem Chlortetracyclin-Gehalt von o.5 ppm im Kern auf 120 °C. Dabei verringerte er sich unter die Nachweisgrenze von o.oo5 ppm. Um den gleichen Aktivitätsverlust zu erreichen, mußte die Probe bei einer Kerntemperatur von 75 °C 120 Minuten lang gehalten werden.

Einfluß der Erhitzung von eingedostem Schweinefleisch mit einem Chlortetracyclin - Gehalt von o.5 ppm bei 75 °C bzw. 120 °C Kerntemperatur

Zeit (min.)	Kerntemp. (°C)	nachgewiesene Menge (in ppm)
1	75.o	o.15
60		o.o3
120		x)
1	120.o	x)
60		x)
120		x)

x) = weniger als o.oo5 ppm

Wie bei der Erhitzung zeigten die Antibiotika auch bei Kühllagerung von unterschiedlicher Dauer in verschiedenen Medien unterschiedliche Aktivitätsverluste.

Die von KERSEY et al. (1953/1954) getesteten Antibiotika Penicillin, Streptomycin, Terramycin, Aureomycin und Bacitracin waren in der Milch mindestens eine Woche stabil, wenn diese bei 8 - 10 °C gekühlt gelagert wurde. SHAHANI et.

al. (1954) beobachteten, daß nach dreiwöchiger Lagerung bei o.5 - 1 °C der Prozentsatz der Aktivitätsverluste von Streptomycin in der Milch anstieg. In weiteren Versuchen erwies sich Streptomycin stabiler als Penicillin, SHAHANI (1957) ermittelte, daß Aureomycin bei Lagerung über 5 Wochen bei 1 - 6 °C zu 41.7% seine Aktivität in der Milch verlor. Bei Aureomycin-HCl zeigten DIEMAIR & RÖDDER (1960) nach einer Lagerzeit von 12 Monaten bei 4 °C in wäßriger Lösung eine Restwirksamkeit von 38% und in gepufferter Lösung (pH 6.0) von 9%. Die Lagerungsdauer von einer Woche bei 3 °C hatte keinen Einfluß auf die Wirksamkeit von Chlortetracyclin im Geflügelfleisch (BROQUIST & KOHLER, 1953). In einem Versuch von SCHEIBNER (1969) nahm die Aktivität von Benzathin-Penicillin enthaltendem Sulfastrepdipen im Fleisch bei der Aufbewahrungim Kühlschrank bei 4 °C beträchtlich ab. Bei einer Gefrierlagerung von 8 Monaten bei - 22 °C beobachteten WOLTERSDORF & SCHMIDT (1973) keine Aktivitätsverluste im chlortetracyclinhaltigen Schweinefleisch. Nach 4 Monaten Lagerzeit stellten sie bei einem zweiten Schlachttier einen Rückgang der Aktivität um 40% fest. Mit einer vollständigen Inaktivierung der im Schweinefleisch vorhandenen Antibiotikarückstände konnte bei Kühl- und Gefrierlagerung nicht gerechnet werden.

5. Mikrobiologischer Hemmstofftest

Der mikrobiologische Hemmstofftest, der zum Nachweis mikrobiologisch wirksamer Substanzen, besonders von Antibiotika, aus biologischem Untersuchungsmaterial dient, besteht aus drei Grundeinheiten :

a) Untersuchungsmaterial
b) Bakterienstamm
c) Nährboden

Dem Prinzip der Hemmstofftests liegt zugrunde, daß das Wachstum von Testbakterien durch die Hemmstoffe beeinflußt wird.

Bei der **qualitativen** Beurteilung von Hemmstoffen in Lebensmitteln werden zwei mikrobiologische Nachweismethoden unterschieden:

a) Nachweis mit flüssigen Nährböden

In den flüssigen Nährböden werden die Hemmstoffe nach ihrer Diffusion und der dadurch bewirkten Beeinflussung der Entwicklung der Testkulturen durch Zusatz von Indikatoren nachgewiesen. 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) eignet sich als Indikator für Hemmung von Testkeimen besonders gut (NEAL & CALBERT, 1956; KOTTER et al., 1959; SPROCKHOFF, 1960; CORETTI, 1961; PIENING, 1962).

b) Nachweis mit festen Nährböden

PICHNARCIK et al. (1969) wiesen bei festen Nährböden die Hemmstoffe nach Diffusion im Agar nach. OBERZILL (1962) fand heraus, daß bei der Bildung von Hemmzonen folgende Faktoren ausschlaggebend waren:

aa) Art des verwendeten Teststammes
bb) physiologischer Zustand der Testkeime
cc) Einsaatdichte der Testsuspension
dd) Bebrütungsdauer
ee) Zusammensetzung des Nährmediums
ff) Schichtdicke des Agars
gg) Form und Menge des zu untersuchenden Materials
hh) Art der Aufbringung des Hemmstoffes.

Unter Berücksichtigung der Art des Materialauftragens beim Agar-Diffusionsverfahren kann man vier Nachweisverfahren unterscheiden:

Beim Gefrierblockverfahren legt man gefrorenes Material als gestanzte Blöckchen auf den Nährboden, der mit Bakterien beimpft wurde (GARTSIDE, 1960; SCHAAL, 1961; FORSCHNER, 1962; KLIMA, 1966; LORENZEN, 1967; WENZEL, 1971). Bei der Blättchenmethode verbringt man Fließpapierblattchen mit einem **bestimmten Durchmesser** auf die Schnittfläche der Organe bzw. Muskulatur oder benetzt sie mit einem aus dem Untersuchungsmaterial gewonnenen Extrakt. Diese Papierblätt-

chen werden dann auf den mit dem Testkeim beimpften Agar gelegt (KELCH & CORETTI, 1959; KISSLING, 1959; KAFERSTEIN, 1964; KIND, 1966; v. SCHOTHORST, 1969). Beim Zylinderverfahren benutzt man in den meisten Fällen 10 mm hohe und im Innendurchmesser 6 mm weite Zylinder aus rostfreiem Stahl, aus Porzellan, Glas oder Aluminium. Die Zylinder drückt man in den Nährboden, anschließend gibt man die zu untersuchenden Flüssigkeiten in die Zylinder (OBERZILL, 1962; BRÜGGEMANN et al., 1966; WALLHAUSSER & SCHMIDT, 1967). Das Lochtestverfahren dient hauptsächlich zum Nachweis von Hemmstoffen in Flüssigkeiten. In die Löcher, die mit einem sterilen Korkbohrer - etwa mit einem Durchmesser von 10 mm - gestanzt wurden, werden bestimmte Mengen des Untersuchungsgutes pipettiert (CORETTI, 1959; KÄFERSTEIN, 1964; WELZ, 1967; WALLHAUSSER & SCHMIDT, 1967).

In letzter Zeit erlangte beim mikrobiologischen Hemmstoff-Nachweis in Lebensmitteln die Methode mit Festnährböden eine große Bedeutung, da sie zur Zeit die Anforderungen im Routinebetrieb am besten erfüllt. Die Vorteile dieser Methode sind ein geringer zeitlicher und personeller Aufwand, niedrige Kosten, unterschiedliche, insgesamt gesehen aber hohe Empfindlichkeit, ein sehr breites Nachweisspektrum, ausreichende Spezifität und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse (OBIGER, 1972). Ein vom "Arbeitskreis lebensmittelhygienischer tierärztlicher Sachverständiger" entwickeltes und vom Bundesgesundheitsamt empfohlenes Verfahren (LEVETZOW, 1971) - der sogenannte Hemmstofftest ('HT') - wurde später in das deutsche Fleischhygienerecht (Anlage 4 zu § 20 Abs. 4 AB.A, 1973) eingefügt. Danach sind unter anderem folgende Bedingungen für die Untersuchungstechnik zu erfüllen:

a) Aus dem Nierenmark und der Muskulatur sind nach Einfrieren je zwei zylinderförmige Gewebsstücke mit einem Durchmesser von 8 mm und einer Höhe von etwa 2 mm auszustanzen. Je ein Gewebsstück der Niere und der Muskulatur ist auf je einen vorbereiteten Nährboden von pH 6.o und pH 8.o aufzulegen.

b) Auf einen vorbereiteten Nährboden mit einem pH von 6.o werden ein Oxoid-Testblättchen mit o.o1 I.E. Penicillin G-Na, auf einen vorbereiteten Nährboden mit einem pH von 8.o ein Oxoid-Testblättchen mit o.5 mcg Streptomycin aufgelegt. Die Nährböden werden als Kontrolle gleichzeitig mit bebrütet.

c) Die Nährböden sind 18 - 24 Stunden bei + 30 °C zu bebrüten.

Bei den Nährböden muß eine gleichmäßige Schichtdicke von 2 mm vorhanden sein. Als Testkeim ist Bac. subtilis BGA (= Bundesgesundheitsamt) zu verwenden. Die Sporensuspension wird auf eine Dichte von ca. 10^7 Sporen/ml eingestellt. Für die Beurteilung ist eine Hemmzone von mindestens 2 mm als positiv anzusehen.

C. Eigene Untersuchungen

Folgende Untersuchungen wurden im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt:

Ermittlung der Hemmwirkungen der verwendeten Antibiotika in verschiedenen Konzentrationen auf verschiedene Teststämme mittels des Blättchentests im Hinblick auf die Aussagekraft des später verwendeten Prüfstammes Bac. subtilis BGA.

Prüfung der Auswirkung der Kühl- und Gefrierlagerung sowie verschiedener Erhitzungen auf die antibiotischen Aktivitäten zugesetzter Testsubstanzen

a) bei Rindfleisch in zerkleinertem Zustand nach Einmischung mit einem Mixgerät

b) in Kaninchenfleisch nach intramuskulärer Verabreichung verschiedener Testsubstanzen intra vitam.

1. Material

Die Untersuchungen auf Hemmwirkungen wurden mit den Antibiotika-Nachweisagar Nr. 1 (Oxoid), bei Prüfung von Sarcina lutea mit Zusatz von KH_2PO_4, durchgeführt. Die normale Zusammensetzung des Nährbodens war wie folgt:

	g / Liter
Pepton (Oxoid L 34)	6.o
Tryptone (peptone) (Oxoid L 42)	4.o
Yeast-Extrakt (Oxoid L 21)	3.o
Lab Lemco powder (Oxoid L 29)	1.5
Dextrose	1.o
Agar No. 1 (Oxoid L 11)	11.5

Als Teststämme kamen folgende Mikroorganismen zur Anwendung:

Bac. subtilis BGA
Bac. subtilis ATCC 6633
Sarcina lutea ATCC 9341
Bac. cereus ATCC 11778
Staph. epidermidis ATCC 12228

Die Stämme wurden freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. Levetzow, Bundesgesundheitsamt Berlin, Robert von Ostertag-Institut, zur Verfügung gestellt.

Folgende, von den aufgeführten Firmen bezogene Antibiotika wurden überprüft:

Oxytetracyclin dihydrate-A grade, M.W. 496,46	Calbiochem
Aureomycin (7-Chlortetracyclin), M=478,9	Serva
Tetracyclin-Base, 331 - 359	"
Bacitracin, USP XVII, 68ooo IE/g	"
Streptomycin-Sulfat, pharm.	"
Penicillin-G-Kaliumsalz, 1575 E / mg, m=372,5	"
Oleandomycin, M=687,9	"
Chloromycetin (Chloramphenicol), M=323,1	"
Flavomycin, standard 6(1 mg enthält 925 mcg)	Farbwerke Hoechst AG

Für die Kontrollversuche wurden Testblättchen Nr. 287 der Firma Schleicher & Schüll mit einem Durchmesser von 1.o cm verwendet.

Das Rindfleisch für den Einmischungsversuch wurde wie folgt gewonnen und vorbereitet: Ein Stück Muskulatur aus der Oberschale eines zweijährigen Bullen wurde unmittelbar nach dem Schlachten unter sterilen Bedingungen entnommen und auf seinen Antibiotikagehalt untersucht. Nach negativem Ausgang des allgemeinen Hemmstofftests wurde eine Menge von etwa 1 kg für die Durchführung der Einzelversuche unter sterilen Bedingungen mit dem Fleischwolf zerkleinert. Das zerkleinerte Fleisch wurde portioniert, zu etwa 100 g in Aluminiumfolie verpackt und bei -20 °C eingefroren. Das Fleisch war dabei 4 Std. alt und zeigte einen pH-Wert von 5,78.

Um das Verhalten einer definierten Menge eines Antibiotikums im Fleisch nach Applikation an die Tiere intra vitam zu ermitteln, wurden an antibiotikafrei gefütterte Kaninchen, die vom Institut für Veterinärmedizin des Bundesgesunheitsamtes zur Verfügung gestellt worden waren, folgende Antibiotika intramuskulär verabreicht:

Terramycin (1 ml ≙ 52 mg Oxytetracyclin) / Pfizer
Aureomycin (Chlortetracyclin-HCl, kristall.) / Lederle
Achromycin (Tetracyclin-HCl, kristall.) / Lederle

Dihydrostreptomycin (1 ml ≙ 251 mg) / Heyl & Co.
Penicillin-G-Natrium (1 ml ≙ 200.000 I.E.) / Heyl & Co.
Chloromycetin (1 ml ≙ 150 mg Chloramphenicol) / Parke-Davis
Oleandocyn (Oleandomycin) / Roerig; Pfizer

2. Methodik

2.1. Herstellung der Antibiotika - Verdünnungsreihen

Da die erforderlichen minimalen Dosierungen nicht direkt herstellbar waren, wurden je 10 mg der verwendeten Reinsubstanzen mit einer Mikrowaage in Meßkolben eingewogen und in 100 ml Aqua dest. gelöst. Von dieser Stammlösung wurden jeweils 1 ml mit Aqua dest. solange verdünnt, bis die gewünschten Dosierungen erreicht waren.

2.2. Die Reinzüchtung und Reinerhaltung der Testkeime

Die verwendeten Testkeime wurden von Schrägagar-Reinkulturen abgeimpft. Vor der Verwendung der Stämme wurden jeweils eine Passage auf optimalen Nährböden sowie die mikroskopische Reinheits- und Identifizierungsuntersuchung vorgenommen. Die Kulturerhaltung erfolgte durch regelmäßiges Überimpfen in dreiwöchigen Abständen auf Schrägagar nach jeweils 24-stündiger Passage in Nährbouillon.

2.3. Die Gewinnung der Testkultur und die Aufarbeitung zu einer eingestellten Test-Suspension

a) Bac. subtilis BGA - Sporensuspension
b) Bac. subtilis ATCC 6633 - Sporensuspension

Standard-II-Nähragar (Merck) oder ein anderer gleichwertiger Nährboden wurde nach massiver Ösenbeimpfung mit der jeweiligen Bac. subtilis-Kultur zehn Tage bei 30 °C bebrütet. Danach erfolgte die Abschwemmung mit steriler physiologischer NaCl - Lösung. Die erhaltene Suspension wurde bei 3000 U/min. 10 Minuten zentrifugiert, der Überstand abgegossen und das Sediment erneut mit steriler physiologischer NaCl - Lösung versetzt. Nach abermaligem zehnminütigen Zentrifugieren bei 3000 U/min. und Abgießen des Überstandes wurde sterile NaCl - Lösung zugegeben und die Suspension 30 Minu-

ten bei 70 °C erhitzt. Die so gewonnene Sporensuspension wurde mit Hilfe kultureller Keimzählungen auf eine Dichte von ca. 10^7 Sporen/ml eingestellt und anschließend in einem Kühlschrank bei +4 °C aufbewahrt.

c) Sarcina lutea ATCC 9341 - Suspension

Für die Beimpfung wurde eine 18 Stunden alte "Brain-Heart-Infusion-Broth"-Kultur gut gemischt und so mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, daß auf einer beimpften Agarplatte ein konfluentes Wachstum nach Bebrütung bei 30 °C für 18 Stunden entstand. In den meisten Fällen konnte die gewünschte Keimdichte durch eine Verdünnung von 1 : 100 erreicht werden, was auch v. SCHOTHORST (1970) anführte.

d) Bac. cereus ATCC 11778 - Suspension
e) Staph. epidermidis ATCC 12228 - Suspension

Eine Schrägagarkultur wurde mit 3 ml physiologischer NaCl-Lösung abgeschwemmt. Damit wurde eine Roux - Flasche mit 250 - 300 ml Standard-II-Nähragar (Merck) beimpft und 5 Tage lang bei 30 °C bebrütet. Die Abschwemmung der Bakterien erfolgte mit 30 ml eines Gemisches aus 20 ml Äthanol + 80 ml Aqua dest.. Nach Homogenisierung mit dem Ultra-Turrax wurde in dieser Suspension durch photometrische Messung der Extinktion bei 650 nm eine Dichte von ca. 10^7 Keimen / ml eingestellt.

2.4. Herstellung des Bakterien-Nährboden-Gemisches

a) Bac. subtilis BGA - Nährbodengemisch
b) Bac. subtilis ATCC 6633 - Nährbodengemisch
c) Bac. cereus ATCC 11778 - Nährbodengemisch
d) Staph. epidermidis ATCC 12228 - Nährbodengemisch

Zur Präparation des Nährbodens für den Hemmstofftest wurden zu 500 ml verflüssigtem und auf 50 °C abgekühlten Agar 0.5 ml der oben beschriebenen Suspensionen des jeweiligen Testkeimes unter Schütteln zugefügt. Nach Einstellen der pH - Werte auf 6.0 bzw. 8.0 mit Hilfe von Phosphatpufferlösung wurde das erhaltene Gemisch so in Petrischalen

ausgegossen, daß eine gleichmäßige Schichtdicke von etwa 2 mm entstand.

e) Sarcina lutea ATCC 9341 - Nährböden

Glasschalen mit einem Durchmesser von 15 cm wurden vollkommen waagerecht aufgestellt und mit 40 ml Agar vorsichtig gefüllt. Der erstarrte Agar wurde mit 10 - 20 ml Sarcina lutea - Suspension überschichtet. Das Übermaß an Flüssigkeit wurde nach 10 Minuten abpipettiert. Der beimpfte Agar wurde 30 Minuten bei 37 °C getrocknet. Die auf diese Weise vorbehandelten Platten konnten eine Woche lang im Kühlschrank aufbewahrt werden.

2.5. Empfindlichkeitsbestimmungen der Teststämme mit dem Agar-Diffusionstest in Form des "Blättchen"-Tests

Zuerst wurde die Empfindlichkeit der verwendeten Teststämme gegenüber den verschiedenen Antibiotika festgestellt. Dazu wurden die Agar-Platten im geöffneten Zustand 30 Minuten lang bei 37 °C im Brutschrank getrocknet. Danach wurden auf die Oberfläche der Platten Filterpapierblättchen aufgelegt und o.o1 ml der jeweiligen Antibiotika-Verdünnung (1000 mcg pro ml, 100 mcg/ml, 10 mcg/ml, 1.o mcg/ml, o.1 mcg/ml) aufpipettiert. Die Bebrütung erfolgte bei 30 °C für 18 - 24 Std.. Danach wurden die Platten ausgewertet, wobei Hemmzonen von 1 mm und mehr als positiv angesehen wurden. Zur Absicherung wurden diese Versuche jeweils zehnmal bei pH 6.o bzw. 8.o durchgeführt.

2.6. Manuelle Einmischung von Antibiotika-Lösungen in zerkleinerte Fleischproben

Für den jeweiligen Versuchsansatz wurden die eingefrorenen Teilmengen zwei Stunden bei Zimmertemperatur (18 - 20 °C) aufgetaut. Mit einem Haushaltsmixgerät wurde das aufgetaute Fleisch mit Antibiotikasuspensionen unterschiedlicher Dosierung (1.o mg, o.1 mg, 10 mcg und 1.o mcg) zu je 100 g Fleisch etwa drei Minuten gemischt. Von dem mit Antibiotika versetzten Fleisch wurde der Hemmstofftest durchgeführt und bei positivem Ausfall das Fleisch im Kühlschrank (ca. + 4 °C) bis zu 10 Tage lang aufbewahrt und täglich auf den Wirkungs-

abfall untersucht. Parallel dazu wurden Erhitzungsversuche durchgeführt. Jeweils eine Probemenge von 1 g wurde in sterile Reagensgläser verbracht. Im Wasserbad wurden diese auf 70 °C, 90 °C und 100 °C erhitzt und 20 Minuten bei dieser Temperatur gehalten. Der Wärmeverlauf wurde mit einem in einem Kontrollröhrchen direkt in das Fleisch eintauchenden Quecksilberthermometer gemessen. Die erhitzten Proben wurden bei Zimmertemperatur abgekühlt und danach ebenso wie die nicht erhitzten Proben auf die Agarplatten mit pH 6.o und pH 8.o aufgelegt. Von jeder Antibiotika-Fleischmischung wurden jeweils 4 Proben im Rohzustand und für jede der 3 Erhitzungsstufen auf Prüfplatten mit pH 6.o und 8.o täglich über einen Zeitraum von 10 Tagen angelegt. Zur Kontrolle wurde außerdem antibiotikafreies Fleisch auf Agarplatten mit pH 6.o und pH 8.o gebracht. Die Bebrütung erfolgte bei 30 °C für 18 - 24 Stunden.

2.7. Injektion von Antibiotika-Lösungen bei Versuchstieren zur Gewinnung hemmstoffpositiver Fleischproben

Jeweils einem Kaninchen wurde eine definierte Menge eines Antibiotikums in den M. gastrocnemius verabreicht. Um Fleisch zu gewinnen, in dem tatsächlich und in ausreichendem Maße Antibiotika nachweisbar waren, wurden für die einzelnen Antibiotika mehrere Versuche mit verschiedenen Abständen zwischen Applikation und Tötung angesetzt. Das Ziel war erreicht, wenn mindestens ein Tierkörper pro Antibiotikum für die Untersuchungen zur Verfügung stand. Das wurde im einzelnen unter den in Tabelle 9 aufgeführten Bedingungen erreicht, wobei insgesamt 26 Kaninchen notwendig waren.

Tabelle 9

Antibiotikum	Lösungsart	Körpergewicht in kg	Dosis in mg bzw. IE/kg Kgw.	Zeit bis zur Schlachtung (in h)
Terramycin	ölig	2.8	52	24
Aureomycin	wässrig	3.o	67	24
Achromycin	wässrig	3.o	67	24
Dihydrostreptomycin	ölig	3.1	100	3
Penicillin-G	wässrig	2.6	600.ooo	24
Oleandomycin	Procain-Lsg.	3.o	50	3
Chloromycetin	wässrig	3.o	50	1

Nach der Schlachtung wurde eine Hälfte des Tierkörpers bei - 18 °C eingefroren. Der Rest wurde in 10 Portionen unterteilt, die im Abstand von jeweils 24 Std., beginnend mit dem Tag der Schlachtung, zur weiteren Behandlung und Untersuchung gelangten.

2.8. Anlage und Untersuchung der hemmstoffpositiven Fleischproben von den Versuchstieren

Die Proben waren etwa erbsengroß und stammten aus der Oberschenkelmuskulatur, wobei darauf geachtet wurde, daß die Proben nicht den Injektionsbereich umfaßten. Von jedem positiven Versuchstier wurden jeweils 5 Proben im Rohzustand und für jede der 3 Erhitzungsstufen auf Prüfplatten mit pH 6.o und 8.o aufgelegt. Insgesamt handelte es sich um jeweils 40 Teilproben und 8 zusätzliche negative Kontrollen. Die Versuche wurden über einen Zeitraum von 10 Tagen täglich wiederholt. Sie wurden in Reagensgläser verbracht und im Wasserbad 20 Minuten bei 73 °C und 93 °C bzw. im Ölbad bei ca. 115 °C erhitzt. Dabei wurde die Temperatur in einer mitgeführten Kontrollprobe mit einem Thermometer gemessen.

Da bei diesen Kontrollmessungen auffiel, daß Thermostaten, Wasserbadthermometer und Kontrollthermometer voneinander abweichende Werte erbrachten, wurden nachträglich noch kontrollversuche mit verschiedenen anderen Temperaturmeßgeräten durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Versuche sowie Angaben über die verwendeten Geräte sind in Tabelle 10 zusammengestellt. Aus diesen Angaben läßt sich ableiten, daß die effektive Erhitzung der Fleischproben im Röhrchen folgende Werte erreichte:

im 73 °C - Wasserbad :	70 °C im Kern
im 93 °C - Wasserbad :	90 °C im Kern
im 115 °C - Ölbad :	100 °C im Kern

Nach Abkühlung auf Zimmertemperatur wurden die Fleischproben auf die mit dem Teststamm (Bac. subtilis BGA) versehenen und vorgetrockneten Agarplatten (pH 6.o und pH 8.o) gelegt, wobei auf weitgehend runde Form der Probenstückchen geachtet wurde. Alle beschickten Platten wurden 18 - 24 Stunden bei 30 °C bebrütet und anschließend ausgewertet. Dabei wurden durchgehende Hemmzonen von 1 mm und mehr als positiv betrachtet. Zur Kontrolle wurde außerdem antibiotikafreies Kaninchenfleisch analog behandelt. Das eingefrorene Fleisch

Tabelle 10

Temperatur - Vergleichsmessungen mit verschiedenen Thermometern zur Ermittlung der tatsächlich erreichten Kerntemperaturen der Fleischproben im Wasser- bzw. Ölbad

gewünschte Temperatur	70 °C	90 °C	115 °C
Meßwert des Wasser- bzw. Ölbad-Quecksilber-Thermometers	73 °C	93 °C	115 °C
Quecksilber-Thermometer in den Kontrollröhrchen mit Fleischproben	70 °C	90 °C	99.5 °C
Kerntemperatur-Meßgerät Therm 2102 Fa. Ahlborn, 815 Holzkirchen	70 °C	90 °C	100 °C
Kerntemperatur-Meßgerät Elcorp KT 11 Fa. Maurer & Söhne KG., 7752 Insel Reichenau	70.5 °C	90.5 °C	n.e.+)
Temperatur-Meßfühler (Widerstands-thermometer) am Punktschreiber Fa. Hartmann & Braun, 1000 Berlin	69 °C	88 °C	98 °C
angenommene effektive Kerntemperatur	70 °C	90 °C	100 °C

+) n.e. = nicht erfaßt
außerhalb des erfaßbaren Temperatur-Meßbereiches

wurde nach 20-tägiger Lagerung bei - 18 bis -20 °C bei Zimmertemperatur (20 - 22 °C) innerhalb von zwei bis drei Stunden aufgetaut. Die weitere Behandlung und Untersuchung entsprach der des nicht gefrorenen Fleisches.

3. Ergebnisse

3.1. Empfindlichkeit der verwendeten Teststämme gegenüber den getesteten Antibiotika

a) Bac. subtilis BGA

Im "Blättchentest" erwies sich Bac. subtilis BGA als empfindlich gegen Oxytetracyclin (OTC), Tetracyclin (TC), Chlortetracyclin (CTC) und Penicillin, weniger empfindlich gegen Streptomycin und kaum empfindlich gegen Oleandomycin, Flavomycin und Chloramphenicol. Bacitracin zeigte keine Beeinflussung.

Bei gleichen Dosierungen waren auf den Hemmstoffplatten mit pH 6.o bzw. pH 8.o unterschiedliche Reaktionen festzustellen. OTC, TC, Penicillin und Flavomycin erzeugten bei pH 6.o grössere Hemmhöfe als bei pH 8.o. Streptomycin und Oleandomycin ergaben die umgekehrte Reaktion, d.h. die Hemmhöfe waren bei pH 8.o größer als bei pH 6.o. Dieser Sachverhalt trat besonders deutlich bei der Ermittlung der Nachweisbarkeitsgrenzen zutage. So ergab sich bei TC auf Hemmstoffplatten mit pH 6.o für o.o1 mcg eine positive, auf Platten mit pH 8.o eine negative Reaktion. Bei Flavomycin ergab sich bei pH 6.o für o.1 mcg eine positive, bei pH 8.o eine negative Reaktion. Streptomycin und Oleandomycin zeigten bei pH 8.o für o.1 mcg eine positive, bei pH 6.o eine negative Reaktion. Die Einzelwerte sind aus der Tabelle 11 zu ersehen. Bei mehreren Versuchsansätzen mit TC und Streptomycin zeigte sich ein sekundärer Hemmhof (Abbildungen 1 und 2).

b) Bac. subtilis ATCC 6633

Bac. subtilis ATCC 6633 zeigte eine gute Empfindlichkeit gegenüber Penicillin und Streptomycin, eine mittlere gegenüber Oxytetracyclin, Tetracyclin, Chlortetracyclin und Oleandomycin und eine geringe gegenüber Flavomycin und Chloramphenicol. Bacitracin erwies sich als wirkungslos.

Auch in dieser Versuchsreihe konnten bei gleicher Dosierung auf den Hemmstoffplatten pH 6.o und pH 8.o unterschiedliche Ergebnisse festgestellt werden. OTC, TC und Penicillin bildeten bei pH 6.o größere Hemmhöfe als bei pH 8.o. Streptomycin

Tabelle 11 Hemmhöfe gegenüber verschiedenen Wirkstoffen bei Bac. subtilis BGA im Plättchentest auf jeweils 10 parallel angelegten Testplatten (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm)

Antibiotika \ Dosierung in mcg		10		1.0		0.1		0.01	
		pH 6	pH 8	pH 6	pH 8	pH 6	pH 8	pH 6	pH 8
Oxytetracyclin	max.	17	11	13	9	8	6	3	2
	med.	16	10	11	8	6	4	2	1
	min.	15	9	9	6	4	3	1	0
Tetracyclin	max.	16	14	13	10	7	5	2	0
	med.	15	11	9	8	4	3	1	0
	min.	13	10	7	5	2	2	0	0
Chlortetracyclin	max.	19	16	14	11	11	8	5	4
	med.	16	13	12	9	9	6	4	3
	min.	14	10	10	7	6	3	2	1
Bacitracin	max.	1	0	0	0	0	0	0	0
	med.	0	0	0	0	0	0	0	0
	min.	0	0	0	0	0	0	0	0
Streptomycin	max.	11	14	4	9	2	5	0	1
	med.	6	11	4	7	0	3	0	0
	min.	5	9	4	6	0	2	0	0
Penicillin	max.	20	17	16	12	14	10	9	7
	med.	19	15	13	10	11	8	6	4
	min.	18	13	11	9	8	6	3	2
Oleandomycin	max.	8	11	2	6	0	2	0	0
	med.	6	8	1	4	0	1	0	0
	min.	3	5	0	3	0	0	0	0
Flavomycin	max.	6	5	4	2	2	0	0	0
	med.	5	4	3	1	1	0	0	0
	min.	4	3	1	0	0	0	0	0
Chloramphenicol	max.	11	9	4	3	0	0	0	0
	med.	7	6	2	1	0	0	0	0
	min.	5	5	1	0	0	0	0	0

bb. 1

bb.

Bildung sekundärer Hemmhöfe im "Blättchentest" mit Bac. subtilis BGA beim Nachweis von Streptomycin (Abb. 1) und Tetracyclin (Abb. 2)

und Oleandomycin zeigten die umgekehrte Reaktion. Dieses Verhalten konnte bei jeder Versuchsreihe festgestellt werden. Positive bzw. negative Reaktionen differierten besonders deutlich im Bereich der Nachweisbarkeitsgrenze. Bei CTC ergab sich für o.o1 mcg bei pH 6.o eine positive, bei pH 8.o eine negative Reaktion. Die Einzelwerte sind aus Tabelle 12 zu ersehen. Bei keinem Versuchsansatz bildete sich ein sekundärer Hemmhof.

c) Bac. cereus ATCC 11778

Bac. cereus ATCC 11778 reagierte auf OTC, TC, CTC, Streptomycin und Flavomycin mit guter Empfindlichkeit, auf Oleandomycin mit mittlerer und auf Chloramphenicol mit geringer Empfindlichkeit. Bei Bacitracin zeigte sich keine, bei Penicillin nur in der höchsten Antibiotikadosierung eine schwache Reaktion, d.h. Bac. cereus ATCC 11778 war gegenüber diesen beiden Substanzen weitgehend resistent.

Auf den Hemmstoffplatten pH 6.o und pH 8.o wurden bei gleicher Dosierung wiederum unterschiedliche Ergebnisse beobachtet. OTC, TC und CTC zeigten bei pH 6.o größere Hemmhöfe als bei pH 8.o. Streptomycin und Oleandomycin zeigten dagegen bei pH 8.o grössere Hemmhöfe als bei pH 6.o. Bei der Nachweisbarkeitsgrenze wurden unterschiedliche positive und negative Reaktionen deutlich. Bei OTC und TC ergab sich auf pH 6.o für o.o1 mcg eine positive, auf pH 8.o eine negative Reaktion. Streptomycin hatte bei pH 6.o eine negative, bei pH 8.o eine positive Reaktion. Die Einzelwerte sind in Tabelle 13 zusammengestellt.

d) Sarcina lutea ATCC 9341

Sarcina lutea ATCC 9341 reagierte besonders empfindlich auf Penicillin. Bei OTC, TC und CTC zeigte sich eine mittlere, bei Bacitracin, Oleandomycin und Chloramphenicol eine geringe Empfindlichkeit. Gegenüber Streptomycin und Flavomycin erwies sich dieser Stamm als resistent. Die genannten Antibiotika wiesen wiederum unterschiedliche pH-Abhängigkeiten auf, und zwar konnten in allen Fällen bei pH 6.o größere Hemmhöfe als bei pH 8.o beobachtet werden. Bei der Ermittlung der Nachweisbarkeitsgrenze konnte der Hemmhof bei pH 8.o zwar erkannt, jedoch nicht als positiv bezeichnet werden, während er bei pH

Tabelle 12 Hemmhöfe gegenüber verschiedenen Wirkstoffen bei Bac. subtilis ATCC 6633 im Blättchentest auf jeweils 10 parallel angelegten Testplatten (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm)

Antibiotika \ Dosierung in mcg		10		1.0		0.1		0.01	
		pH		pH		pH		pH	
		6	8	6	8	6	8	6	8
Oxytetracyclin	max.	10	9	7	6	5	2	0	0
	med.	9	8	5	3	3	1	0	0
	min.	8	7	4	2	0	0	0	0
Tetracyclin	max.	12	10	9	5	6	3	0	0
	med.	9	6	5	4	3	2	0	0
	min.	7	5	5	1	2	1	0	0
Chlortetracyclin	max.	13	10	10	7	7	4	3	1
	med.	11	7	8	4	3	1	1	0
	min.	10	6	7	3	3	1	0	0
Bacitracin	max.	2	1	0	0	0	0	0	0
	med.	0	0	0	0	0	0	0	0
	min.	0	0	0	0	0	0	0	0
Streptomycin	max.	13	15	10	11	7	9	3	5
	med.	10	12	6	9	3	5	1	3
	min.	9	8	5	6	3	4	0	2
Penicillin	max.	15	12	13	9	9	5	5	3
	med.	13	9	9	7	4	3	2	1
	min.	11	7	7	5	2	2	1	0
Oleandomycin	max.	11	13	7	8	2	5	0	0
	med.	8	10	3	5	1	2	0	0
	min.	6	8	2	3	0	0	0	0
Flavomycin	max.	3	2	0	0	0	0	0	0
	med.	3	2	0	0	0	0	0	0
	min.	3	2	0	0	0	0	0	0
Chloramphenicol	max.	10	9	4	3	0	0	0	0
	med.	8	7	4	3	0	0	0	0
	min.	6	5	4	3	0	0	0	0

Tabelle 13 Hemmhöfe gegenüber verschiedenen Wirkstoffen bei Bac. cereus ATCC 11778 im Blättchentest auf jeweils 10 parallel angelegten Testplatten (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm)

Antibiotika \ Dosierung in mcg		10		1.0		0.1		0.01	
		pH		pH		pH		pH	
		6	8	6	8	6	8	6	8
Oxytetracyclin	max.	12	10	8	7	6	4	2	0
	med.	11	9	7	5	4	2	2	0
	min.	10	6	6	4	3	1	2	0
Tetracyclin	max.	12	10	9	7	6	4	3	1
	med.	11	8	8	6	5	2	2	0
	min.	9	7	6	5	3	1	1	0
Chlortetracyclin	max.	13	10	10	7	8	5	4	2
	med.	11	9	9	6	6	3	3	1
	min.	10	7	8	4	5	2	2	0
Bacitracin	max.	0	0	0	0	0	0	0	0
	med.	0	0	0	0	0	0	0	0
	min.	0	0	0	0	0	0	0	0
Streptomycin	max.	8	9	4	7	3	4	0	2
	med.	7	9	3	5	1	3	0	1
	min.	6	9	2	3	0	2	0	0
Penicillin	max.	2	1	0	0	0	0	0	0
	med.	2	1	0	0	0	0	0	0
	min.	2	1	0	0	0	0	0	0
Oleandomycin	max.	8	11	6	8	2	5	0	2
	med.	7	10	4	7	2	4	0	0
	min.	6	9	3	5	0	1	0	0
Flavomycin	max.	10	11	8	8	5	5	2	2
	med.	9	8	6	6	3	4	1	1
	min.	8	7	5	5	2	3	0	0
Chloramphenicol	max.	8	7	3	2	0	0	0	0
	med.	6	5	2	1	0	0	0	0
	min.	4	3	1	0	0	0	0	0

6.o klar größer als 1 mm war. Für TC und Oleandomycin ergaben sich bei o.1 mcg auf pH 6.o deutlich positive Hemmhöfe. Um auf pH 8.o einen klaren Hemmhof erkennen zu können, mußte die Dosierung auf 1 mcg erhöht werden. Bei CTC genügte eine Dosierung von o.o1 mcg, um auf pH 6.o einen positiven Hemmhof zu erzielen, wogegen für pH 8.o die Dosierung auf o.1 mcg erhöht werden mußte. Auch bei Flavomycin mußte die Dosierung erhöht werden, um bei pH 8.o ein positives Ergebnis zu bekommen. Die Einzelwerte sind aus der Tabelle 14 zu entnehmen.

e) Staph. epidermidis ATCC 12228

Im "Blättchentest" ließ Staph. epidermidis ATCC 12228 eine deutliche Empfindlichkeit gegenüber Streptomycin, Flavomycin und Chloramphenicol, und eine geringe gegenüber Bacitracin erkennen. OTC, TC und CTC bewirkten bei diesem Bakterienstamm keine Hemmhofbildung. Die oben genannten Antibiotika zeigten wiederum unterschiedliche Hemmhofgrößen bei pH 6.o bzw. pH 8.o. Streptomycin und Oleandomycin erbrachten bei pH 8.o größere Hemmhöfe als bei pH 6.o. Umgekehrt zeigten Penicillin und Flavomycin bei pH 6.o eine größere Hemmwirkung als bei pH 8.o. Auf Agarplatten mit pH 6.o bzw. mit pH 8.o waren bei Chloramphenicol keine unterschiedlichen Hemmhofgrößen festzustellen. Die pH-Abhängigkeit der Antibiotika auf den Agarplatten war bei den Minimaldosierungen deutlich sichtbar. Für Streptomycin ergab sich bei o.1 mcg auf pH 8.o ein positiver Hemmhof. Um einen solchen auch bei pH 6.o erkennen zu können, mußte die Dosierung auf 1 mcg erhöht werden. Die einzelnen Ergebnisse sind in Tabelle 15 veranschaulicht.

Tabelle 14 Hemmhöfe gegenüber verschiedenen Wirkstoffen bei Sarcina lutea ATCC 9341 im Blättchentest auf jeweils 10 parallel angelegten Testplatten (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm)

Antibiotika \ Dosierung in mcg		10		1.0		0.1		0.01	
		pH		pH		pH		pH	
		6	8	6	8	6	8	6	8
Oxytetracyclin	max.	12	8	6	4	3	1	0	0
	med.	11	7	5	4	2	1	0	0
	min.	9	6	3	4	1	1	0	0
Tetracyclin	max.	14	9	6	3	3	1	0	0
	med.	11	7	4	2	2	0	0	0
	min.	10	6	4	1	1	0	0	0
Chlortetracyclin	max.	16	9	12	7	6	2	2	0
	med.	15	7	11	5	5	1	1	0
	min.	14	6	10	4	4	1	1	0
Bacitracin	max.	11	7	6	2	1	0	0	0
	med.	8	5	5	1	0	0	0	0
	min.	7	3	4	0	0	0	0	0
Streptomycin	max.	0	0	0	0	0	0	0	0
	med.	0	0	0	0	0	0	0	0
	min.	0	0	0	0	0	0	0	0
Penicillin	max.	26	25	22	19	15	14	11	8
	med.	25	23	19	18	13	12	9	6
	min.	22	20	18	16	12	11	8	5
Oleandomycin	max.	11	8	6	3	3	0	0	0
	med.	9	6	3	2	1	0	0	0
	min.	8	5	2	1	0	0	0	0
Flavomycin	max.	1	0	0	0	0	0	0	0
	med.	1	0	0	0	0	0	0	0
	min.	0	0	0	0	0	0	0	0
Chloramphenicol	max.	11	11	4	4	2	1	0	0
	med.	8	7	2	3	0	0	0	0
	min.	7	6	1	2	0	0	0	0

Tabelle 15 Hemmhöfe gegenüber verschiedenen Wirkstoffen bei Staph. epidermidis ATCC 12228 im Plattenteest auf jeweils 10 parallel angelegten Testplatten (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm)

Antibiotika	Dosierung in mcg	10		1.0		0.1		0.01	
		pH		pH		pH		pH	
		6	8	6	8	6	8	6	8
Oxytetracyclin	max.	0	0	0	0	0	0	0	0
	med.	0	0	0	0	0	0	0	0
	min.	0	0	0	0	0	0	0	0
Tetracyclin	max.	0	0	0	0	0	0	0	0
	med.	0	0	0	0	0	0	0	0
	min.	0	0	0	0	0	0	0	0
Chlortetracyclin	max.	0	1	0	0	0	0	0	0
	med.	0	1	0	0	0	0	0	0
	min.	0	0	0	0	0	0	0	0
Bacitracin	max.	1	2	0	0	0	0	0	0
	med.	1	2	0	0	0	0	0	0
	min.	0	2	0	0	0	0	0	0
Streptomycin	max.	8	12	3	7	0	3	0	0
	med.	7	10	2	4	0	2	0	0
	min.	6	8	1	4	0	1	0	0
Penicillin	max.	16	14	12	10	9	7	5	4
	med.	13	11	11	8	7	5	3	2
	min.	12	10	8	7	4	4	2	1
Oleandomycin	max.	8	9	3	5	1	2	0	0
	med.	6	7	1	2	0	0	0	0
	min.	4	7	1	2	0	0	0	0
Flavomycin	max.	10	9	7	5	3	2	0	0
	med.	9	7	6	3	3	1	0	0
	min.	8	6	5	2	0	0		
Chloramphenicol	max.	8	8	5	4	1	0	0	0
	med.	8	7	4	3	0	0	0	0
	min.	8	6	3	1	0	0	0	0

3.2. Ergebnisse der Versuche mit zerkleinertem Rindfleisch nach Einmischung

1. Versuche mit Oxytetracyclin

Je 10 mcg, 1.o mcg, o.1 mcg und o.o1 mcg OTC waren in 1 g zerkleinertem Fleisch enthalten. Dabei zeigten im Rohfleisch nur o.o1 mcg OTC keine Hemmwirkung. Diese Reaktionen blieben während der Lagerung bei 4 °C über 10 Tage unverändert. Bei einer Erhitzung auf 70 °C/20 min. wiesen o.1 mcg, auf 90 °C/20 min. 1.o mcg und auf 100 °C/20 min. sogar 10 mcg keine Hemmwirkungen mehr auf. Mit steigender Temperatur verringerte sich bei gleicher Menge OTC die Hemmhofgröße, wobei sich bei pH 6.o größere Hemmhöfe ergaben als bei pH 8.o. Die Einzelwerte sind aus Tabelle 16 zu ersehen.

Art der Behandlung		Dosierung in mcg/g 10 pH 6.0	pH 8.0	1.0 pH 6.0	pH 8.0	0.1 pH 6.0	pH 8.0
roh	max.	11	9	8	6	3	0
	med.	10	8	7	5,5	2	0
	min.	9	8	7	5	2	0
70°C	max.	6	4	3	2	0	0
	med.	5	3,5	2,5	2	0	0
	min.	4	3	2	2	0	0
90°C	max.	2	2	0	0	0	0
	med.	2	1	0	0	0	0
	min.	2	1	0	0	0	0

Tabelle 16 Hemmhöfe von in Rindfleisch eingemischtem Oxytetracyclin vor und nach dem Erhitzen aus 4 Versuchen (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm) sofort nach Einmischung

2. Versuche mit Tetracyclin

Wie Tabelle 17 zeigt, ergab erst 1 mcg TC Hemmwirkungen, wobei pH 6.o eine Hemmhofgröße von 4 mm und bei pH 8.o von 3 mm aufwies. Bei der Erhitzung auf 70 °C und 90 °C für 20 min. verringerte sich die Hemmhofgröße entsprechend abgestuft bei pH 6.o und bei pH 8.o. Nach 10 Tagen konnte bei kleinen TC-Mengen und bei hoher Temperatur Hemmwirkungen nicht mehr beobachtet werden, und bei einer Temperatur von 100 °C/20 min. hatte sogar eine Menge von 10 mcg TC ihre Aktivität verloren.

Art der Behandlung		Dosierung in mcg/g					
		10		1.0		0.1	
		pH		pH		pH	
		6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
roh	max.	8	7	4	4	0	0
	med.	8	6	4	3	0	0
	min.	8	5	4	2	0	0
70°C	max.	7	6	2	1	0	0
	med.	6	5	2	1	0	0
	min.	5	4	2	1	0	0
90°C	max.	5	4	1	0	0	0
	med.	4	3,5	1	0	0	0
	min.	3	3	1	0	0	0

Tabelle 17 Hemmhöfe von in Rindfleisch eingemischtem Tetracyclin vor und nach dem Erhitzen aus 4 Versuchen (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm) sofort nach Einmischung

3. Versuche mit Chlortetracyclin

Aus Tabelle 18 ist ersichtlich, daß bei CTC ähnliche Hemmwirkungen wie bei OTC auftraten. Nur ergab sich im Rohfleisch bei einer Menge von o.1 mcg CTC, daß auf Agarplatten mit pH 6.o ein Hemmhof von 2 mm auftrat, während bei pH 8.o kein Hemmhof vorhanden war. Sogar bei einer Erhitzung auf 70 °/20 min. zeigte 1 mcg in den letzten Tagen der Versuche bei pH 8.o keine Hemmwirkungen. Je höher die Temperatur und je kleiner die Menge des zugesetzten Antibiotikums war, desto schneller nahm die Aktivität ab. So wurden bei 100 °C/20 min. bei keiner CTC-Dosierung noch Hemmwirkungen festgestellt.

Art der Behandlung		Dosierung in mcg/g					
		10		1.0		0.1	
		pH		pH		pH	
		6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
roh	max.	11	9	7	6	2	0
	med.	10	8	7	5,5	2	0
	min.	9	7	7	5	2	0
70°C	max.	4	3	3	2	0	0
	med.	4	3	3	1,5	0	0
	min.	3	3	3	1	0	0
90°C	max.	3	1	0	0	0	0
	med.	2,5	1	0	0	0	0
	min.	2	1	0	0	0	0

Tabelle 18 Hemmhöfe von in Rindfleisch eingemischtem Chlortetracyclin vor und nach dem Erhitzen aus 4 Versuchen (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm) sofort nach Einmischung

4. Versuche mit Penicillin

Bei 10, 1.o, o.1 und o.o1 mcg zugefügtem Penicillin zu je 1 g zerkleinertem Fleisch zeigten sich unterschiedliche Hemmwirkungen in unerhitztem und erhitztem Zustand. In unerhitztem Zustand waren bei einer Menge von o.o1 mcg Hemmhöfe vorhanden, während bei einer Erhitzung auf 70 °C/20 min. keine Hemmwirkungen auftraten. Bei der gleichen Erhitzungsstufe ergab sich mit 1.o mcg bei pH 6.o eine Hemmhofgröße von 5 mm und bei pH 8.o von 4 mm, dagegen konnten bei 90 °C/20 min. keine Hemmwirkungen mehr festgestellt werden. Mit steigender Temperatur und während der letzten Tage der Versuche waren nur noch in geringem Maße Aktivitäten nachweisbar. Dabei stellte sich eine pH-Abhängigkeit des Penicillins deutlich heraus, so daß bei einer Erhitzung auf 90 °C/20 min. mit einer Menge von 10 mcg auf den Agarplatten mit pH 6.o Hemmhöfe von 2 mm und mit pH 8.o keine Hemmhöfe beobachtet wurden. Die Einzelwerte sind in Tabelle 19 dargestellt.

Art der Behandlung		Dosierung in mcg/g					
		10		1.0		0.1	
		pH 6.0	pH 8.0	pH 6.0	pH 8.0	pH 6.0	pH 8.0
roh	max.	9	8	6	5	4	2
	med.	8	7	6	5	3	2
	min.	7	6	6	5	2	2
70°C	max.	6	5	5	4	0	0
	med.	6	4	5	3,5	0	0
	min.	6	4	5	3	0	0
90°C	max.	2	0	0	0	0	0
	med.	2	0	0	0	0	0
	min.	2	0	0	0	0	0

Tabelle 19 Hemmhöfe von in Rindfleisch eingemischtem Penicillin vor und nach dem Erhitzen aus 4 Versuchen (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm) sofort nach Einmischung

5. Versuche mit Streptomycin

Die Hemmwirkungen zeigten sich abgestuft je nach Dosierung und Erhitzungsgrad, natürlich wiederum abhängig vom pH-Wert im Nachweismedium. Im weiteren Verlauf der zehntägigen Versuche verringerten sich die Hemmwirkungen so, daß 10 mcg vom 7. Tag an bei pH 6.o keinen Hemmhof aufwiesen und bei pH 8.o die Hemmhofgröße 2 mm betrug. Einzelwerte sind aus Tabelle 20 zu entnehmen.

Art der Behandlung		Dosierung in mcg/g					
		10		1.0		0.1	
		pH		pH		pH	
		6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
roh	max.	5	6	3	5	0	0
	med.	4	6	3	4	0	0
	min.	3	6	3	3	0	0
70°C	max.	2	3	1	3	0	0
	med.	2	3	1	2	0	0
	min.	2	3	1	2	0	0
90°C	max.	1	2	0	0	0	0
	med.	1	2	0	0	0	0
	min.	1	2	0	0	0	0

Tabelle 20 Hemmhöfe von in Rindfleisch eingemischtem Streptomycin vor und nach dem Erhitzen aus 4 Versuchen (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm) sofort nach Einmischung

6. Versuche mit Chloramphenicol

Chloramphenicol ließ sich in zerkleinertem Fleisch nur sehr schlecht nachweisen. Bei einer Menge von 10 mcg im unerhitzten Zustand lag die Hemmhofgröße auf Agarplatten nur bei 1 mm, so daß bei Erhitzungsversuchen keine Hemmwirkungen mehr beobachtet werden konnten. Ähnliches gilt für den Einfluß der Lagerung, der gleichfalls nicht zu ermitteln war.

3.3. Aktivitätsverluste der Antibiotika in Kaninchenfleisch während der Lagerung bei Kühl- und Gefriertemperaturen sowie nach Hitzebehandlung

In der Folge sollen die nachgewiesenen Aktivitätsverluste der einzelnen Antibiotika im Fleisch nach Lagerung bei Kühl- und Gefriertemperaturen sowie nach Hitzebehandlung zusammengestellt werden, die mit Hilfe der Bac. subtilis BGA - Sporensuspension auf Agarplatten ermittelt wurden.

1. Versuche mit Oxytetracyclin

Die Untersuchung des 24 Std. nach der Injektion gewonnenen Kaninchenfleisches erbrachte in der Ausgangsprobe Hemmhöfe von 6 mm bei pH 6.o sowie von 5 mm bei pH 8.o. Nach der Erhitzung auf 70 °C, 90 °C und 100 °C für jeweils 20 min. erwies sich nur die auf 70 °C erhitzte Probe noch als hemmstoffpositiv. Bei pH 6.o betrug der Hemmhof 3 mm, bei pH 8.o 1 mm. Bei der Fortführung dieser Versuche über den Zeitraum von 10 Tagen waren keine Veränderungen in der Hemmhofbildung erkennbar. Wie schon im "Blättchentest" waren die Hemmzonen auf pH 6.o - Platten größer als auf solchen mit pH 8.o. In rohem Fleisch blieben die Hemmwirkungen ebenfalls unverändert bestehen. Das vorangegangene Gefrieren und die Gefrierlagerung über 20 Tage führten bei den analog durchgeführten Erhitzungsversuchen zu keinen anderen Ergebnissen. Einzelwerte sind in den Tabellen 21 a und b zusammengestellt.

Tage		roh		70 °C		90 °C		100 °C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.o	8.o	6.o	8.o	6.o	8.o	6.o	8.o
0	max.	7	6	3	2	0	0	0	0
	med.	6	5	3	1	0	0	0	0
	min.	5	4	2	1	0	0	0	0
5	max.	6	5	3	2	0	0	0	0
	med.	5	5	2	1	0	0	0	0
	min.	5	3	2	0	0	0	0	0
10	max.	6	5	2	1	0	0	0	0
	med.	6	5	2	1	0	0	0	0
	min.	5	3	1	0	0	0	0	0

Tabelle 21 a Hemmhöfe von Oxytetracyclin in Kaninchenfleisch in rohem und erhitztem Zustand von jeweils 5 Proben (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm)

Tage		roh		70 °C		90 °C		100 °C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.o	8.o	6.o	8.o	6.o	8.o	6.o	8.o
0	max.	7	5	3	2	0	0	0	0
	med.	6	5	2	1	0	0	0	0
	min.	5	4	2	1	0	0	0	0
5	max.	6	5	2	2	0	0	0	0
	med.	5	4	2	2	0	0	0	0
	min.	4	4	1	1	0	0	0	0
10	max.	7	7	3	2	0	0	0	0
	med.	6	5	2	1	0	0	0	0
	min.	6	5	1	0	0	0	0	0

Tabelle 21 b Versuchsansatz wie oben, jedoch nach vorausgegangenem Gefrieren und einer Lagerung von 20 Tagen bei - 18 °C

2. Versuche mit Tetracyclin

24 Stunden nach der Injektion waren in der Kaninchenmuskulatur Rückstände von Tetracyclin vorhanden, die zu Hemmhöfen von 8 mm (pH 6.o) und 7 mm (pH 8.o) führten. Tetracyclin zeigte sich hitzebeständiger als Oxytetracyclin. Die angewandten Temperatur-Zeit-Kombinationen ließen mit steigenden Temperaturen abnehmende Hemmzonen beobachten. Bei pH 6.o wurden bei 70 °C 4 mm, bei 90 °C 2 mm und bei 100 °C nur noch 1 mm gemessen. Bei pH 8.o lagen die ermittelten Werte jeweils um 1 mm darunter (Tabelle 22 a). Die pH-Abhängigkeit war also der im "Blättchentest" ähnlich, d.h. die Hemmhöfe waren bei pH 6.o größer als bei pH 8.o. Die Ergebnisse von gefriergelagertem Ausgangsmaterial waren weitgehend ähnlich (Tabelle 22 b).

3. Versuche mit Chlortetracyclin

Chlortetracyclin konnte 24 Stunden nach erfolgter Applikation in der Muskulatur nachgewiesen werden. Die Hemmhofgröße lag bei pH 6.o bei 10 mm, bei pH 8.o bei 7 mm. Verglichen mit Oxytetracyclin und Tetracyclin nahm Chlortetracyclin eine Zwischenstellung hinsichtlich der Hitzebeständigkeit ein. Bei Temperaturen von 70 °C, 90 °C und 100 °C verringerten sich die antibiotischen Aktivitäten im Fleisch bei steigender Temperatur. So betrug die Hemmhofgröße bei 70 °C auf Agarplatten mit pH 6.o 6 mm, bei 90 °C 3 mm und bei 100 °C nur noch 1 mm. Entsprechend waren auf pH 8.o - Platten die Hemmhöfe 5 mm (70 °C) und 3 mm (90 °C). Bei 100 °C konnte kein positiver Befund erhoben werden (Tabelle 23 a). Die vorherige Gefrierlagerung bei - 18 °C hatte keine Abnahme der Hemmhöfe zur Folge. Es hat vielmehr den Anschein, als ob die Hemmwirkung noch größer ist als bei dem direkt in die Erhitzungsversuche einbezogenen Fleisch (Tabelle 23 b).

4. Versuche mit Streptomycin

Nach einer Wartezeit von 3 Std. p.i. wurden Streptomycin-Rückstände im Kaninchenfleisch nachgewiesen. Die Hemmhofgröße lag bei pH 6.o bei 5 mm, bei pH 8.o bei 7 mm. Die Erhitzung zeigte, daß dieses Antibiotikum hitzebeständiger als

Tage		roh		70 °C		90 °C		100 °C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.o	8.o	6.o	8.o	6.o	8.o	6.o	8.o
0	max.	9	7	5	4	3	2	2	1
	med.	8	7	4	3	2	1	1	0
	min.	8	6	3	2	2	0	0	0
5	max.	9	7	5	4	4	3	2	1
	med.	9	7	4	3	3	2	1	o.5
	min.	8	6	3	3	2	2	0	0
10	max.	9	9	5	5	3	3	2	2
	med.	9	7	5	4	3	2	1	o.5
	min.	8	7	4	3	2	1	0	0

Tabelle 22 a Hemmhöfe von Tetracyclin in Kaninchenfleisch in rohem und erhitztem Zustand von jeweils 5 Proben (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm)

Tage		roh		70 °C		90 °C		100 °C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.o	8.o	6.o	8.o	6.o	8.o	6.o	8.o
0	max.	9	7	6	4	4	3	2	1
	med.	9	7	5	4	3	2	1	0
	min.	8	6	4	3	3	1	0	0
5	max.	9	7	5	4	4	3	2	1
	med.	8	7	5	3	3	2	2	1
	min.	7	5	3	3	3	2	0	0
10	max.	9	7	5	5	3	3	2	2
	med.	9	7	4	3	3	2	2	1
	min.	8	7	4	3	2	1	0	0

Tabelle 22 b Versuchsansatz wie oben, jedoch nach vorausgegangenem Gefrieren und einer Lagerung von 20 Tagen bei - 18 °C

Tage		roh		70 °C		90 °C		100 °C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
0	max.	11	8	7	6	4	3	1	0
	med.	10	7	6	5	3	3	1	0
	min.	8	7	5	4	3	2	1	0
5	max.	9	8	7	6	4	3	1	0
	med.	8	7	6	5	3	3	1	0
	min.	8	7	5	5	2	2	1	0
10	max.	9	7	7	6	4	3	1	0
	med.	9	7	6	5	3	2	1	0
	min.	9	6	5	5	3	2	1	0

Tabelle 23 a Hemmhöfe von Chlortetracyclin in Kaninchenfleisch in rohem und erhitztem Zustand von jeweils 5 Proben (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm)

Tage		roh		70 °C		90 °C		100 °C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
0	max.	9	9	7	6	5	4	2	1
	med.	9	8	7	5	5	4	2	1
	min.	9	7	5	5	4	3	1	0
5	max.	9	8	7	6	4	3	2	1
	med.	9	8	6	5	4	3	2	1
	min.	9	8	5	5	2	2	0	0
10	max.	10	9	7	7	4	3	2	1
	med.	9	8	7	5	4	3	1	1
	min.	9	7	5	5	2	2	0	0

Tabelle 23 b Versuchsansatz wie oben, jedoch nach vorausgegangenem Gefrieren und einer Lagerung von 20 Tagen bei - 18 °C

die Tetracycline war. Die Abnahme der Hemmwirkung erfolgte abgestuft entsprechend dem Anstieg der Temperatur. Die Hemmzonen bei pH 8.o waren größer als bei pH 6.o (Tabelle 24 a). Auch nach Gefrierlagerung bei - 18 °C zeigte sich keine andere Tendenz (Tabelle 24 b).

5. Versuche mit Penicillin

24 Stunden p.i. konnten in der Kaninchenmuskulatur Penicillin-Rückstände mit einer Hemmhofgröße von 9 mm (pH 6.o) und 7 mm (pH 8.o) festgestellt werden. Die Abnahme erfolgte abgestuft, ähnlich wie bei Streptomycin. Auch bei 100 °C/20 min. war eine vollständige Inaktivierung nicht zu erreichen. Wie schon bei OTC, TC und CTC waren die Hemmzonen bei pH 6.o größer als bei pH 8.o (Tabelle 25 a). Die Ergebnisse bei den Gefrierlagerungsversuchen waren nahezu gleichartig (Tabelle 25 b).

6. Versuche mit Oleandomycin

Nach einer Wartezeit von 3 Std. p.i. konnten Oleandomycin-Rückstände im Fleisch nachgewiesen werden und zwar mit Hemmhöfen von 6 mm (pH 6.o) und 8 mm (pH 8.o). Wie bei Streptomycin waren die Hemmhöfe auf pH 8.o durchweg größer. Durch erhöhte Erhitzungstemperaturen konnte eine abgestufte Aktivitätsabnahme erzielt werden (Tabelle 26 a). Die Hemmhöfe bei gefriergelagertem Fleisch lagen mehrfach geringfügig niedriger als bei direkt geprüftem Fleisch (Tabelle 26 b).

7. Versuche mit Chloramphenicol

Eine Stunde p.i. konnten Chloramphenicol-Rückstände in der Muskulatur gefunden werden, wobei die Hemmhöfe bei pH 6.o und pH 8.o auch im weiteren Untersuchungsverlauf keine nennenswerten Unterschiede zeigten. Sie lagen im Bereich von 8 - 9 mm Durchmesser. Der Chloramphenicol-Gehalt erwies sich als ziemlich hitzebeständig. Noch nach einer Erhitzung auf 100 °C/20 min. wurden Hemmzonen von 5 mm bei beiden pH-Werten beobachtet (Tabelle 27 a). Auch die Gefrierlagerung bei - 18 °C führte zu keiner wesentlichen biologischen Inaktivierung, wenngleich einzelne Werte der erhitzten Proben nach Gefrierlagerung etwas niedriger als bei direkter Prüfung des Fleisches lagen (Tabelle 27 b).

Tage		roh		70°C		90°C		100°C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
0	max.	5	7	4	6	3	4	2	3
	med.	5	7	4	6	2	4	1	2
	min.	5	6	3	5	1	3	1	2
5	max.	5	7	4	5	3	4	1	3
	med.	5	7	4	5	3	4	1	2
	min.	4	6	4	5	2	3		2
10	max.	6	7	4	6	3	4	1	3
	med.	5	7	4	6	3	4		2
	min.	5	7	3	5	2	3		2

Tabelle 24 a Hemmhöfe von Streptomycin in Kaninchenfleisch in rohem und erhitztem Zustand von jeweils 5 Proben (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm)

Tage		roh		70°C		90°C		100°C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
0	max.	7	8	5	7	4	6	2	4
	med.	6	8	5	7	3	5	2	3
	min.	5	8	4	6	3	5	1	2
5	max.	6	9	5	7	4	5	3	4
	med.	6	8	4	6	4	5	2	3
	min.	4	8	3	6	3	5	2	2
10	max.	5	8	4	7	4	6	2	3
	med.	5	8	4	7	3	5	2	2
	min.	5	7	3	6	3	5	1	2

Tabelle 24 b Versuchsansatz wie oben, jedoch nach vorausgegangenem Gefrieren und einer Lagerung von 20 Tagen bei - 18 °C

Tage		roh		70 °C		90 °C		100 °C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.o	8.o	6.o	8.o	6.o	8.o	6.o	8.o
0	max.	9	8	7	6	5	5	3	3
	med.	9	7	6	5	4	3	3	2
	min.	8	7	6	4	4	3	3	2
5	max.	8	7	6	6	5	3	4	3
	med.	8	7	6	5	4	3	3	2
	min.	7	7	4	4	3	3	3	2
10	max.	10	9	8	6	5	4	4	3
	med.	9	7	7	6	5	3	3	2
	min.	9	6	6	4	4	3	1	1

Tabelle 25 a Hemmhöfe von Penicillin in Kaninchenfleisch in rohem und erhitztem Zustand von jeweils 5 Proben (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm)

Tage		roh		70 °C		90 °C		100 °C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.o	8.o	6.o	8.o	6.o	8.o	6.o	8.o
0	max.	9	8	6	5	4	3	3	2
	med.	9	7	6	5	4	3	2	1
	min.	8	6	5	4	4	1	1	1
5	max.	9	8	6	5	5	3	3	2
	med.	8	7	5	5	4	3	2	1
	min.	7	6	5	3	3	2	2	0
10	max.	10	8	6	5	5	3	3	2
	med.	9	7	6	4	4	3	3	1
	min.	8	7	5	4	4	2	2	1

Tabelle 25 b Versuchsansatz wie oben, jedoch nach vorausgegangenem Gefrieren und einer Lagerung von 20 Tagen bei - 18 °C

Tage		roh		70°C		90°		100°C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
0	max.	7	9	4	7	3	5	1	2
	med.	6	8	4	6	2	4	0	1
	min.	5	7	3	3	0	2	0	1
5	max.	6	9	4	6	3	5	2	2
	med.	6	9	4	5	2	4	0	2
	min.	5	8	3	4	2	2	0	1
10	max.	7	10	5	6	2	5	2	2
	med.	6	8	4	5	2	4	1	2
	min.	5	8	3	5	1	4	0	1

Tabelle 26 a Hemmhöfe von Oleandomycin in Kaninchenfleisch in rohem und erhitztem Zustand von jeweils 5 Proben (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm)

Tage		roh		70°C		90°C		100°C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
0	max.	6	9	5	6	2	4	0	2
	med.	6	8	4	6	2	3	0	1
	min.	5	7	3	5	1	3	0	0,5
5	max.	6	9	4	6	3	4	1	2
	med.	6	7	3	5	2	3	0	1
	min.	4	7	2	5	1	3	0	0
10	max.	7	9	4	6	2	4	0	0
	med.	6	8	3	6	2	4	0	0
	min.	5	7	2	5	1	3	0	0

Tabelle 26 b Versuchsansatz wie oben, jedoch nach vorausgegangenem Gefrieren und einer Lagerung von 20 Tagen bei - 18 °C

Tage		roh		70°C		90°C		100°C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
0	max.	8	8	7	8	6	6	5	5
	med.	8	8	7	7	6	6	5	5
	min.	8	7	7	7	6	6	5	5
5	max.	9	9	7	7	7	6	5	5
	med.	8	9	7	7	6	6	5	4
	min.	8	8	7	7	6	6	5	4
10	max.	9	9	8	8	7	7	6	5
	med.	8	8	7	7	6	6	5	5
	min.	8	8	7	7	6	6	5	5

Tabelle 27 a Hemmhöfe von Chloramphenicol in Kaninchenfleisch in rohem und erhitztem Zustand von jeweils 5 Proben (Maximal-, Median- und Minimalwerte in mm)

Tage		roh		70°c		90°C		100°C	
		pH		pH		pH		pH	
		6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0	6.0	8.0
0	max.	9	9	7	7	6	6	5	5
	med.	9	8	7	7	6	6	5	5
	min.	8	8	6	7	6	6	5	4
5	max.	9	9	7	7	6	6	5	5
	med.	9	9	7	7	6	6	5	5
	min.	8	8	7	7	6	6	5	5
10	max.	9	9	8	8	6	6	5	6
	med.	9	9	8	8	6	6	4	4
	min.	8	8	7	7	5	5	4	4

Tabelle 27 b Versuchsansatz wie oben, jedoch nach vorausgegangenem Gefrieren und einer Lagerung von 20 Tagen bei - 18 °C

4. Besprechung der Ergebnisse

In den von uns durchgeführten Vergleichsuntersuchungen mit den Feststammen Bac. subtilis BGA, Bac. subtilis ATCC 6633, Sarcina lutea ATCC 9341, Bac. cereus ATCC 11778 und Staph. epidermidis ATCC 12228 wurde ihre unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Antibiotika aufgezeigt. Die Beobachtungen stimmen mit denen der nachfolgend genannten Autoren überein (KAKAČS & KOVAČS, 1969; v. SCHOTHORST, 1970; BARTELS et al., 1972; SCHAAL, 1972; LEVETZOW, 1974). Wie aus unseren Versuchsergebnissen hervorgeht, erwies sich Bac. subtilis BGA als besonders empfindlich gegenüber OTC, TC und CTC sowie Penicillin. Er verfügte auch noch über eine gerade ausreichende Empfindlichkeit gegenüber Streptomycin, Oleandomycin, Flavomycin und Chloramphenicol. Dagegen zeigte Bac. subtilis ATCC 6633 gute Empfindlichkeit nur gegenüber Penicillin und Streptomycin. Sarcina lutea reagierte besonders auf Penicillin. Staph. epidermidis zeigte eine deutliche Beeinflußbarkeit durch Penicillin. Bac. cereus zeigte keine Reaktion bei Penicillin und Bacitracin. Aufgrund dieser Befunde und der auch von SCHAAL (1972), BARTELS et al. (1972), FLECK (1973), LEVETZOW (1974) sowie dem Arbeitskreis lebensmittelhygienischer tierärztlicher Sachverständiger (ALTS) ermittelten hohen Empfindlichkeit des Stammes Bac. subtilis BGA gegenüber Penicillin, OTC, TC und CTC wurden die weiteren Untersuchungen ausschließlich mit diesem Stamm durchgeführt. Nach LANGNER et al. (1973) ist dieser vom Bundesgesundheitsamt empfohlene Teststamm weiterhin deshalb vorteilhaft, weil sich die Suspension sehr einfach weiterverarbeiten läßt und auch für die Herstellung des von ihm benutzten Überschichtungsagars gut geeignet ist. Außerdem sieht OBIGER (1972) noch einen Vorteil darin, daß Bac. subtilis BGA bei einer Temperatur von 30 °C bebrütet werden kann, so daß die wärmeempfindlichen Antibiotika keine Aktivitätsverluste erleiden. Nach NOUWS (1973) kann man mit diesem Feststamm sogar schon innerhalb von 1 1/2 Stunden den einfachen Schnelltest durchführen, wobei die Beurteilung mittels indirekter Beleuchtung gegen einen dunklen Hintergrund erfolgt.

Da die einzelnen Antibiotika verschiedenartige pH-Werte für ihre optimale Wirkung erfordern, ergab sich die auch

in der Literatur weitgehend übereinstimmend geforderte Notwendigkeit einer Verwendung von Agarplatten mit verschiedenen pH - Werten (WALTER & HEILMEYER, 1965; GERLACH, 1967; OBERZILL, 1967; PICHNARCIK et al., 1969; KUNDRAT, 1973). Von uns wurde Antibiotikanachweisagar (Oxoid Nr. I) mit pH - Werten von 6.o und 8.o verwendet. In unseren Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß OTC, TC und CTC, Bacitracin, Penicillin, Flavomycin und Chloramphenicol größere Hemmhöfe bei pH 6.o als bei pH 8.o zeigten. Dagegen waren die Hemmzonen bei Streptomycin und Oleandomycin bei pH 8.o größer. Hier stimmen unsere Versuchsergebnisse mit denen von van SCHOTHORST (1970), OBIGER (1972), SCHAAL (1972), BARTELS et al. (1972) und LANGNER et al. (1973) überein. Die Anwendung von Nährböden mit beiden pH - Werten ist daher für den Nachweis von Hemmstoffen dann erforderlich, wenn das enthaltene Antibiotikum nicht bekannt ist.

Hinsichtlich der Auswertung und Beurteilung der Hemmhöfe wäre folgendes zu sagen: Der vorgeschriebene untere Grenzwert von 2 mm im Rahmen der amtlichen Rückstandsuntersuchung nach Anlage 4 der AB.A beruht auf dem u. a. von LANGNER et al. (1973) und GEMMER et al. (1973) beschriebenen potentiellen Vorliegen anderer, möglicherweise unbedenklicher Substanzen im Untersuchungsmaterial, die zu falsch positiven Hemmhöfen führen können. Unsere Erhebungen im "Blättchentest" wurden dagegen mit verdünnten Reinsubstanzen durchgeführt, so daß Fremdeinflüsse ausgeschaltet waren. Bei den Versuchen mit Kaninchen- und Rindfleisch konnten in den Kontrolldurchgängen solche Fremdstoffe nicht ermittelt werden. Da es sich außerdem um Verlaufsuntersuchungen handelte, wurden auch Hemmhöfe mit 1 mm Durchmesser ausgewertet.

Die Untersuchungen über das Verhalten von Antibiotika im Fleisch bei unterschiedlich gearteten und verschieden langen Temperatureinwirkungen sollen im folgenden besprochen und mit der Literatur verglichen werden. Allerdings zeigte der Vergleich der Hemmhofgrößen im "Blättchentest" mit Reinsubstanzen und im Hemmstofftest mit Organ- und Fleischproben, daß bei gleicher Antibiotika-Konzentration die Muskelproben etwa um 30 - 50 % kleinere Hemmhöfe bewirkten. Als Grund dafür

könnte vermutet werden, daß Antibiotika eine mehr oder weniger stabile Bindung mit dem Probenmaterial eingehen und daher in geringerem Maße in die Hemmstoffplatten diffundieren können. Dies ließe als weiteren Schluß erwarten, daß negative Ergebnisse im Hemmstofftest nicht notwendigerweise das Freisein von Antibiotika-Rückständen beweisen.

Über den Einfluß von Gefriertemperaturen (- 18 °C bis - 22 °C) auf die Wirksamkeit der enthaltenen Antibiotika bestehen verschiedene Ansichten. BECK & MANTEL (1972) ermittelten ab der 6. Woche bei - 20 °C Aktivitätsverluste bei Tetracyclinen. Dagegen verneinten SCHMIDT & WOLTERSDORF (1973) bei einer Lagerung von 8 Monaten bei - 22 °C aufgrund ihrer Versuche irgendeine Reduzierung der Wirksamkeit von Chlortetracyclin. Gleiches ermittelte v. SCHOTHORST (1969) für OTC, CTC, Penicillin, Streptomycin und Chloramphenicol bei 14tägiger Lagerung bei - 18 °C. Ebenso konnten wir die mit verschiedenen Antibiotika angereicherten Kaninchenfleischproben ohne Wirkungsverlust 20 Tage lang bei - 20 °C und anschließend bei 4 °C im Kühlschrank lagern. Bei keinem der in diesen Fleischproben enthaltenen Antibiotika kam es zu einem nennenswerten Aktivitätsverlust. Lediglich Oleandomycin wies nach Abschluß der Gefrierlagerung verschiedentlich geringfügig kleinere Hemmhöfe auf. Der zuvor erwähnte Widerspruch der Angaben in der Literatur kann noch nicht endgültig geklärt werden, da die eigenen Versuche nur den kurzen Zeitraum von 20 Tagen umfaßten. Außerdem wurden diese Versuche nur mit Kaninchenfleisch durchgeführt. Das Verhalten der Antibiotika im Fleisch beim Gefrieren ist jedoch möglicherweise abhängig von der Art des Fleisches und sicher von der speziellen Empfindlichkeit des jeweiligen Antibiotikums. Ziemlich sicher scheint zu sein, daß in der kurzen Zeit von 20 Tagen allgemein kein Aktivitätsverlust zu erwarten ist.

Von SCHEIBNER (1969) wurde während der Aufbewahrung antibiotikahaltiger Fleischproben im Kühlschrank ein Aktivitätsverlust beobachtet. Allerdings machte er keine weiteren Angaben über die Versuchsbedingungen. Von unserer Seite konnte dagegen während der 10 Tage langen Aufbewahrung des antibio-

tikhaltigen Kaninchen- und Rindfleisches im Kühlschrank keine Aktivitätsabnahme festgestellt werden, wenn man von geringfügig reduzierten Hemmhöfen bei Streptomycin im Rindfleischversuch absieht. Das entspricht auch den Befunden von v. SCHOTHORST (1969), der das Material bei 4 °C zwei Wochen lagerte, sowie denen von BROQUIST & KOHLER (1953), die ihre Proben eine Woche bei 3 °C aufbewahrten.

Über die Inaktivierung der Antibiotika durch Erhitzung im Fleisch und in Wurstwaren bestehen nur einige, jedoch sehr voneinander abweichende Angaben. DAKIC & PERIC (1973) gelangten zu der Ansicht, daß durch Zunahme der Temperatur die Wirksamkeit von OTC und TC rasch verringert wird. Um bei antibiotikahaltigen Fleischproben eine völlige Hemmstoffinaktivierung zu erzielen, muß nach LUKASS (1971) Kälbermuskulatur bei 65 °C/ 120 min. erhitzt werden. Der Untersucher konnte allerdings über die enthaltenen Antibiotika nur angeben, daß es sich um Tetracycline bzw. TC - Gemische handelte. Derselbe Autor erreichte eine Inaktivierung des OTC bei 75 °C/ 60 min. . Nach unseren Versuchen wurden OTC, TC und CTC bei 70 °C in der allerdings wesentlich kürzeren Zeit von 20 Minuten teilweise inaktiviert, so wie BECK & MANFEL (1972) eine geringe Aktivitätsverminderung bei TC und CTC bei 80 °C/ 10 min. nachwiesen. In Versuchen von v. SCHOTHORST (1969) war eine Inaktivierung von Chloramphenicol bei 80 °C in keinem Fall zu erreichen. Mit einer halbstündigen Erhitzung auf 90 °C konnte LUKASS (1971) in Phophatpuffer gelöstes CTC völlig inaktivieren, wogegen er in Kälbernieren eine völlige Inaktivierung von TC und einem TC - Gemisch erst nach 120 Minuten feststellte. In unseren Versuchen konnten wir nach nur 20minütiger Erhitzung von Kaninchenfleisch eine mäßige Inaktivierung des OTC, TC und CTC beobachten. Bei Einmischung einer niedrigen Konzentration von OTC, TC, CTC und Penicillin in Rindfleisch waren diese Antibiotika nach Erhitzung auf 90 °C/ 20 min. nicht mehr nachweisbar. WOLTERSDORF & SCHMIDT (1973) berichteten, daß CTC in Schweinefleisch durch die üblichen technologischen Verfahren bei einer Erhitzung über 100 °C nur geringfügig

vermindert wurde. Dagegen wies v. SCHOTHORST (1969) nach, daß OTC und CTC im Wasserbad bei 100 °C schon nach 5 Minuten inaktiviert wurden. Unsere Resultate mit OTC und CTC bei 100 °C / 20 min. entsprachen sowohl den Befunden des zuletzt genannten Autors, als auch denen von ESCANILLA et al.(1959), CORETTI (1961), HOLEC (1963), SCHEIBNER (1972) und SMEJKAL et al.(1973). Um die Hitzestabilität von OTC, CTC, Penicillin, Streptomycin und Chloramphenicol zu prüfen, setzte v. SCHOTHORST (1969) diese in Kochsalzlösung verdünnten Antibiotika bei pH-Werten von 5.9 - 6.1 dem Fleisch zu. Dabei ermittelte er, daß Penicillin bei 100 °C innerhalb von 5 Minuten inaktiviert wurde. Die vorliegenden Versuchsergebnisse mit Penicillin zeigten, daß bei Erhitzung auf 100 °C keine völlige Inaktivierung zu erwarten ist, was auch von LUKASS (1971) zitiert wurde. Allerdings waren bei der angewandten Methode im Ölbad in der Fleischprobe keine höheren Temperaturen als 100 °C zu erreichen. Weiterhin konnte v. SCHOTHORST (1969) zeigen, daß Streptomycin nach 20minütiger Erhitzung auf 100 °C keine Aktivitätsverluste erlitt. Auch bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuchen konnte eine völlige Inaktivierung von Streptomycin und darüber hinaus auch von Tetracyclin, Oleandomycin und Chloramphenicol nicht erreicht werden.

Über die Problematik der bei der Inaktivierung durch Erhitzung entstehenden Metaboliten kann im Rahmen dieser Untersuchungen keine Aussage getroffen werden. Zu fordern ist bei vorangegangener Antibiotikaverabfolgung in jedem Falle die Einführung von Wartefristen vor der Schlachtung, um eine Eliminierung der Antibiotika und ihrer Metaboliten noch zu Lebzeiten der Schlachttiere zu ermöglichen.

5. Schlußfolgerungen

Der Stamm Bac. subtilis BGA eignet sich für den Hemmstofftest aufgrund seiner guten Empfindlichkeit gegenüber Oxytetracyclin, Tetracyclin, Chlortetracyclin und Penicillin sowie einer ausreichenden Empfindlichkeit gegenüber Streptomycin, Oleandomycin, Flavomycin und Chloramphenicol, wobei die Reihenfolge eine abfallende Empfindlichkeit anzeigt. Allerdings ist Bacitracin nicht zu erfassen. Der Stamm Bac. subtilis ATCC 6633 hat zwar den Vorteil einer besseren Erfassung von Streptomycin, jedoch können Tetracyclin und Flavomycin weniger sicher nachgewiesen werden. Bac. cereus ATCC 11778 hat den Nachteil eines ungenügenden Penicillin-Nachweises. Sarcina lutea ATCC 9341 ist in der Lage, Bacitracin zu erfassen, jedoch nicht Streptomycin und Flavomycin. Staph. epidermidis ATCC 12228 versagt bei den Tetracyclinen. Der Stamm Bac. subtilis BGA ist daher den anderen in Betracht kommenden Stämmen vorzuziehen. Durch die Verwendung des Bac. subtilis BGA in Form einer Sporensuspension wird der Test überdies gut standardisierbar und wegen der Möglichkeit der Bebrütung des Stammes bei einer Temperatur von 30 °C sind Aktivitätsverluste hitzeempfindlicher Antibiotika noch während der Inkubationszeit nicht zu befürchten.

Eine reduzierende Wirkung von Gefriertemperaturen auf Hemmstoffrückstände scheint wenig wahrscheinlich. Übereinstimmung besteht für den Effekt kurzer Lagerzeiten, während es für längere Lagerzeiten zur Klärung bestehender Widersprüche in der Literatur noch entsprechender langfristiger Untersuchungen mit definierten Antibiotika im Fleisch verschiedener Schlachttiere bedarf.

Durch Kühllagerung ist ebenfalls keine Verminderung der Hemmstoffrückstände zu erwarten.

Bei der Hitzebehandlung von Muskelfleisch sind die Beeinflussungen je nach Erhitzungsgrad und -dauer unterschiedlich. Temperaturen und Erhitzungszeiten von etwa 70 °C und

und 90 °C für 20 Minuten, wie sie auch beim Brühen und beim Kurzbraten von Fleisch und Fleischerzeugnissen zu erwarten sind, führen zu einer beträchtlichen Reduzierung der Hemmwirkung bei Rückständen aus der Tetracyclin - Gruppe, Oxytetracyclin scheint dabei am empfindlichsten und bei 90 °C bereits weitgehend inaktiviert zu sein. Die übrigen Antibiotika Penicillin, Streptomycin, Oleandomycin und Chloramphenicol werden dabei, entsprechend der Reihenfolge ihrer Aufzählung, weniger beeinflußt. Bei Temperaturen von ca. 100 °C wird außer Tetracyclin und Chlortetracyclin auch Oleandomycin in seiner Wirkung stärker beeinträchtigt, während Streptomycin und Penicillin noch reichlich Aktivität behalten und Chloramphenicol am meisten.

Eine mögliche nachteilige Beeinflussung der Mikroökologie des menschlichen Organismus durch antibiotische Substanzen im Fleisch wird also durch den Erhitzungsprozeß herabgesetzt, allerdings in unterschiedlichem Maße. Bei kurzgebratenem Fleisch und bei Brühwursterzeugnissen ist eine weitgehende Inaktivierung der bisher meist nutritiv angewendeten Tetracycline zu erwarten. Penicillin, Oleandomycin, Streptomycin und Chloramphenicol werden nur wenig beeinflußt. Allerdings sind die beiden zuletzt genannten Stoffe ebenso wie das Penicillin nicht zur nutritiven Anwendung zugelassen. Ihr Vorkommen im Fleisch sollte daher besonders scharf verfolgt und reglementiert werden.

D. Zusammenfassung

Zur Prüfung des Verhaltens von Antibiotikarückständen im Fleisch bei unterschiedlich starker Erhitzung sowie bei Kühl- und Tiefkühllagerung wurden zunächst die in der Literatur erwähnten Bakterien-Teststämme auf ihre Empfindlichkeit gegenüber antibiotischen Reinsubstanzen geprüft. Prüfstämme waren Bac. subtilis BGA, Bac. subtilis ATCC 6633, Bac. cereus ATCC 11778, Sarcina lutea ATCC 9341 und Staph. epidermidis ATCC 12228. Bac. subtilis BGA wurde als der brauchbarste ermittelt.

Die Antibiotika Oxytetracyclin, Tetracyclin, Chlortetracyclin, Streptomycin, Penicillin, Oleandomycin und Chloramphenicol wurden zunächst in zerkleinertes Rindfleisch eingemischt sowie in einer zweiten Versuchsreihe Kaninchen vor der Schlachtung injiziert. Die Prüfung bei Kühltemperaturen erstreckte sich auf den Zeitraum von 10 Tagen, bei Tiefkühltemperatur auf 20 Tage. Der Erhitzungsprozeß wurde bei 70 °C, 90 °C und 100 °C für jeweils 20 Minuten vorgenommen.

Nach einer 20tägigen Gefrierlagerung des Kaninchenfleisches bei -18 °C kam es ebenso wie bei der Kühllagerung über zehn Tage bei +4 °C zu keinen nennenswerten antibiotischen Aktivitätsverlusten. Geringe Wirkungsverluste deuteten sich bei Streptomycin im Rindfleischversuch bei Kühllagerung an.

Bei der Hitzebehandlung bei 70 °C und 90 °C für 20 Minuten zeigten sich die Rückstände aus der Tetracyclin-Gruppe am wenigsten stabil, wobei Oxytetracyclin am empfindlichsten reagierte und bei 90 °C weitgehend inaktiviert war. Penicillin, Streptomycin, Oleandomycin und Chloramphenicol wurden dabei, entsprechend der Reihenfolge ihrer Aufzählung, weniger beeinflußt. Bei 100 °C für 20 Minuten wurde auch Oleandomycin in seiner Hemmwirkung stärker beeinträchtigt. Penicillin und Streptomycin behielten noch einen beträchtlichen Teil ihrer Aktivität. Bei Chloramphenicol war das in besonders hohem Maße der Fall.

Summary

To test the reaction of antibiotic residues in meat, under variable intensity of heating as well as with cool and deep freeze storing, at first bacterial test strains cited in the literature were investigated in regard to their sensitivity to pure antibiotical substances. Test strains were Bac. subtilis BGA, Bac. subtilis ATCC 6633, Bac. cereus ATCC 11778, Sarcina lutea ATCC 9341, and Staph. epidermidis ATCC 12228. Bac. subtilis BGA was ascertained as the most useful one.

The antibiotics oxytetracycline, tetracycline, chlorotetracycline, streptomycin, penicillin, oleandomycin, and chloramphenicol were mixed up with chopped beef as well as injected to rabbits, prior to slaughtering, in a second experiment. The low temperature test covered a period of 10 days, the deep freezing test one of 20 days. The heating process was carried out at 70, 90, and 100 °C for 20 minutes each.

Twenty days deep freeze storing of the rabbit meat at -18 °C, as well as cool storing for 10 days at +4 °C, resulted in no mentionable loss of antibiotical activity. A small loss of activity was hinted with streptomycin in beef meat experiments under cool storing.

The remainder of the tetracycline group proved to be the least stabile in heat-treatment at 70 °C and 90 °C for 20 minutes, while oxytetracycline reacted most sensitive and was largely inactivated at 90 °C. In this procedure penicillin, streptomycin, oleandomycin, and chloramphenicol were less influenced according to the sequence of their enumeration. At 100 °C for 20 minutes oleandomycin was also impaired heavier in its inhibition effect. Penicillin and streptomycin kept a reasonable part of their activity. In chloramphenicol this was the case to the highest degree.

Schrifttumsverzeichnis

ABBEY, A., DARKEN, M.A., KLINE, E.F., KOHLER, A.R., MATURI, V.F., MILLER, W.H. and S.D. UPHAM

Comprehensive studies on the use of a food grade of CTC in poultry processing. III. Evaluation of raw and cooked poultry by microbiologic Chlortetracycline assay

Antibiotic Ann. 831-836 (1956)

BARTELS, H., ANGERSBACH, H. und H.J. KLARE

Nachweis von Hemmstoffen bei Tieren aus Normalschlachtungen

Fleischwirtschaft 52, 479-482 (1972)

BECK, G. und Th. MANTEL

Der biologische Hemmstofftest, ein Weg zur Klärung des Rückstandsproblems im Fleisch

Fleischwirtschaft 52, 1606-1609 (1972)

BECKER, W. Zerstörung von Antibiotika in der Milch durch Kurzzeiterhitzung

Milchwissenschaft 21, 155-157 (1966)

BERGMEN, L.I. Et Muayenesi

A.Ü. Veteriner Fakültesi yayinlari 425-433 (1965)

BERNER, W. Auswirkungen der Milchaustauscherfütterung und Antibiotikaapplikationen auf Beschaffenheit und Zusammensetzung der Faezes bei Mastkälbern

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 84, 269-272 (1971)

BISPING, W. Die Kehrseite der Antibiotikatherapie aus der Sicht der Veterinärmedizin

Dtsch. tierärztl. Wschr. 69, 495-498 (1962)

BLOBEL, H. und C.W. BURCH

Oxytetracycline concentrations in blood serums and milk secretions of cows following intravenous or intramammary treatment

J. Amer. Vet. Med. Ass. 137, 61-63 (1960)

BOHONOS, N., DORNBUSH, A.C., FELDMAN, L.I., MARTIN, J.H., PELCAK, E. and J.H. WILLIAMS

In vitro studies with Chlortetracycline, Oxyteracycline and Tetracycline

Antibiotic. Ann. 49-55, (1953-1954)

BONFERT, W. u. K. BERRANG

Hemmstoffnachweis im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung

Arch. Lebensmittelhyg. 20, 61-63 (1969)

BROQUIST, H.P. and A.R. KOHLER

Studies of the antibiotic potency in the meat of animals fed Chlortetracycline

Antibiotic Ann. 409-411 (1953)

BRUGGEMANN, M., MERKENSCHLAGER, M. u. K.H. NIESAR

Bilanzstudien mit C^{14} Chlortetracyclin an der Legehenne unter den Bedingungen der Antibiotikafütterung

Zbl. Vet. Med. B. 10, 631-648 (1963)

BRÜGGEMANN, J., LÖSCH, U., MERKENSCHLAGER, M. u. L. OFFERDINGER

Ablagerung von Tetracyclin im Knochengewebe von Tieren bei dem Zusatz von Tetracyclinen zum Futter

Zbl. Vet. Med. A. 13, 59-74 (1966)

BULLING, E., SCHOLZ, M. u. D.S. MALLA

Antibiotikaresistenz von Enterobakterien aus Tiermaterial und Versuche zur Übertragung der Mehrfachresistenz in vitro

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 81, 151-155 (1968)

BULLING, E. u. R. STEPHAN

Untersuchungen zur übertragbaren Antibiotikaresistenz bei Darmkeimen

Zbl. Vet. Med. B. 17, 121-124 (1970)

dies.

Die Wirkung der Antibiotikabeifütterung in nutritiven Dosen auf die Resistenzentwicklung der coliformen Darmflora bei Schweinen 2. Mitteilung: Verbreitung von R-Faktoren durch Antibiotika-Anwendung

Zbl. Vet. Med. B. 18, 449-456 (1971)

CATRON, D.V. Antibiotika in der Tierernährung

Münchener Symposium (1954)

CLARENBURG, A. u. E.H. KAMPELMACHER

Die Bedeutung von Antibiotika für die bakteriologische Fleischbeschau mit besonderer Berücksichtigung der Milzbrand- und Salmonella-Diagnostik

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 70, 203-205 (1957)

CORETTI, K. Mikrobiologischer Nachweis von Hemmstoffen bei Gelatine

Fleischwirtschaft 11, 737-738 (1959)

ders. Nachweis von Antibiotika in Fleischwaren
Fleischwirtschaft 13,119-122 (1961)

DAKIC, M. u. M. PERIC

Einfluss der Erhitzung bei +70°C, + 80°C, + 90°C und + 100°C auf die biologische Aktivität der Antibiotika Tetracyclin und Oxyteracyclinhydrochlorid

Technologija mesa 13, 319 (1973)
ref. Fleischwirtschaft 53,1461 (1973)

DEAN, F.J. Antibiotics in milk

Milk Dealer 40, 102 (1950)

DEDEK, J., EYLAND, E. u. I. VOGEL

Nachweis von Hemmstoffen im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung

Mh. Vet.-Med. 26, 604-606 (1971)

DIEMAIR, W. u. W. RÖDDER

Verhalten der Antibiotika in Lebensmitteln I. Mitteilung : Über die quantitative Erfassung der Antibiotika

Zschr. Lebensmittel-Unters. u. - forschung III, 265-277 (1960)

ESCANILLA, O., CARLIN, A.F. and J.C. AYRES

Effect of storage and cooking on Chlortetracycline residues in meat

Food Technol. 11, 520-523 (1959)

FLECK, J.-D. Untersuchungen zum Hemmstoffnachweis in Fleischproben mit Bac. stearothermophilus var. calidolactis C 953 und Bac. subtilis BGA

Vet. Med. Diss. Gießen 1973

FOLTIN, H. Zur Frage des Salmonellennachweises bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung nach Antibiotikabeifütterung bzw. -therapie

Vet. Med. Diss. München 1960

FORCK, G. Häufigkeit und Bedeutung von Chloramphenicol-Allergien

Dtsch. med. Wschr. 96, 161-165 (1971)

FORSCHNER, E. Hemmstoffe in Organen von Schlachttieren

Arch. Lebensmittelhyg. 13, 242-246 (1962)

FOSTER, J.W. and H.B. WOODRUFF

Microbiological aspects of Penicillin

J. Bacteriol. 46, 187-190 (1943)

GARTSIDE, R.N.C. The detection of antibiotics in canned meat

zit. nach F.K. Käferstein (1964)

GEMMER, H. Über zwei Fälle von Milzbrand bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung

Vet. Med. Nachrichten 122-131 (1968)

GEMMER, H., SEEGER, H. u. M. HAASE

Veterinärmedizinische Beiträge zum Umweltschutz

Die Blauen Hefte 50, 529-542 (1973)

GERLACH, H. Zur Resistenztestung gegen Antibiotika und Sulfonamide

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 80, 231-234 (1967)

GRATZL, E. u. W. JAKSCH

Der Penicillinblutspiegel bei Pferd, Rind und Hund

Wien. tierärztl. Mschr. 9, 144-169 (1952)

GRATZL, E. u. R. SZUMLAKOWSKI

Streptomycin-Blutserumspiegelbestimmungen bei Pferd, Rind und Hund sowie zwei Verfahren zur Spiegelverlängerung

Wien. tierärztl. Mschr. 40, 547-563 (1953)

HAHN, G. Blutserumspiegelbestimmungen beim Hund nach Injektion von Penicillin, Streptomycin und Tetracyclin
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 72, 344-345 (1959)

HAUKE, H. Untersuchungen über die Inaktivierung antibiotikahaltiger Milch durch die Pasteurisierung
Mh. Vet.-Med. 23, 105-108 (1968)

HOJOVEC, J. Die hygienische Problematik der Kälberaufzucht in Massentierbeständen
Zbl. Vet. Med. B. 17, 59-65 (1970)

HOLEC, J. K problematice pouzivani antibiotik z hlediska hygieny potravin
Vet. medicina 8, 2, 67-76 (1963)
zit. nach J. Holec u. J. Pleva (1967)

HOLEC, J. u. J. PLEVA
Die Rückstände von nutritiv vorgelegten Futterchlortetracyclin im Gewebe der Schlachtschweine und der Einfluß der Technologie auf diese Rückstände in Produkten
Docum. Vet. Brno 6, 281-288 (1967)

HOOD, E.G. and H. KATZNELSON
The effect of Penicillin on lactic streptococci
J. Dairy Res. 16, 39-41 (1949)

IONOVA, I. Die Thermostabilität der Antibiotika Tetracyclin und Oxytetracyclin während der Hitzebehandlung von Geflügelfleisch (bulg.)
Vet. med. Nauki 8, Nr. 10, 75
ref. Fleischwirtschaft 53,1461 (1973)

KAFERSTEIN, F.K. Nachweis und Bedeutung des Vorkommens von Antibiotika im Fleisch von Schlachttieren
Vet. med. Diss. Gießen 1964

KAEMMERER, K. zit. in : Drews, H.
Hemmstoffgehalt in Organen und Muskulatur normal geschlachteter Kälber aus dem Einzugsbereich eines norddeutschen Schlachthofes
Vet. med. Diss. Hannover 1972

KALICH, J. u. M. MARKENSCHLAGER

Zur Frage des Salmonellennachweises in Organen nach Antibiotikatherapie bzw. -beifütterung

Tierärztl. Umschau 13, 324-328 (1958)

KELCH, F. u. K. CORETTI

Zum Nachweis von Aureomycin in Fleisch- und Organproben von Schlachttieren

Fleischwirtschaft 11, 358-359 (1959)

KERSEY, R.C., VISOR, F.C. and C.L. WRENSHALL

Residual antibiotic levels in food products during storage and processing
Antibiotic. Ann. 438-448 (1953-1954)

KEWITZ, H. Antibiotika in der Tierernährung

DFG Mitteilung III (1968)

ders. Antibiotika in der Tierernährung

Zbl. Vet. Med. B. 17, 116-120 (1970)

KIND, H. Hemmstoffe unter besonderer Berücksichtigung der bakteriologischen Fleischuntersuchung

Mh. Vet.-Med. 21, 903-910 (1966)

KIRCHGESSNER, M. u. H. FRIESECKE

Antibiotika in der praktischen Tierernährung

Bayr. Landwirtschaftsverlag München, Basel, Wien (1966)

KISSLING, R. Mikrobiologische Methode zum Nachweis von Antibiotika in Fleisch- und Organproben

Wien. tierärztl. Wschr. 46, 466-472 (1959)

KLIMA, H. Zur Frage des Hemmstoffnachweises anläßlich der bakteriologischen Fleischuntersuchung

Fleischwirtschaft 46, 1347-1349 (1966)

KNOTHE, H. Antibiotische Stoffe in der Tierhaltung und mögliche Rückwirkung auf den Menschen im Hinblick auf Allergie und Resistenz

Dtsch. Tierärzteblatt 15,26-29 (1967)
Sonderteil Nr. 1

ders. Übertragbare Arzneimittelresistenz bei apathogenen und pathogenen Darmbakterien

DVG, 14. Arbeitstag., Arbeitsgebiet Lebensmittelhyg., Freiburg 28.9. - 1.10.1971

KOHLER, A.R., MILLER, W.H. and H.P. BROQUIST

Aureomycin, Chlortetracycline and the control of poultry spoilage

Food Technol. 9, 151-154 (1955)

KOTTER,L., TERPLAN, G. u. H. SCHULZE

Biologischer Nachweis von Hemmstoffen in Lebensmitteln tierischer Herkunft

Arch. Lebensmittelhyg. 10, 145-152 (1959)

KRAUSHAAR, A. Resorption, Verteilung und Ausscheidung
In : R. Brunner, G. Machek : Die Antibiotika

Verl. H. Carl, Nürnberg 1965

KRIENKE, W.A. and E.L. FOUTS

The effect of storage on Penicillin in dairy products

J. Dairy Sci. 33, 403-405 (1950)

KRÜCKEN, J. Zur Frage der Verwendung von Antibiotika für die Konservierung von Lebensmitteln besonders von Fleisch

Arch. Lebensmittelhyg. 8, 16-19 (1957)

KUNDRAT, W. Vergleichende Versuche und Gedanken zur Durchführung von Hemmstofftesten

Fleischwirtschaft 53, 1121-1125 (1973)

KUSCH, D., SIEMS, H. u. H.J. SINELL

Zur Antibiotika-Resistenz koagulase-positiver Staphylokokken aus verschiedenen Biotopen

Zbl. Vet. Med. B. 19, 285-290 (1972)

LANGNER, H.J. u. U. TEUFEL

Der chemische und mikrobiologische Nachweis von Antibiotika
5. Mitteilung : Der mikrobiologische Nachweis verschiedener Antibiotika mit Bac. subtilis ATCC 6633 und Bac. subtilis BGA

Fleischwirtschaft 53, 1748-1750 (1973)

LEBEK, G. Einflüße der antibakteriellen Arzneimittel im Tierfutter auf das Auftreten von Antibiotika und chemoresistenten pathogenen Keimen

Zbl. Vet. Med. B. 17, 103-115 (1970)

LEVETZOW, R. Untersuchung auf Hemmstoffe im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung

Bundesgesundheitsbl. 14, 211-213 (1971)

ders. Möglichkeiten zur Erfassung biologischer Rückstände im Fleisch

Vortr. 11. Deutsch. Tierärztetag, Berlin

LIENERT, E. Verwendung der Antibiotika in der Tierernährung

Wien. tierärztl. Mschr. 57, 422-426 (1970)

LINZENMEYER, G. Resistenz und Chemotherapie

Dtsch. Tierärztebl. 15, 26 (1967)
Sonderteil zu Nr. 1

LOFTSGAARD, G., BRISKEY, E.J., NES, N. u. C. OLSEN

Penicillinrückstände im Gewebe von Schweinen

Amer. J. Veter. Res. 29, 1613-1618 (1968)
ref. Mh. Vet.-Med. 25, 685 (1970)

LORENZ, A. Der Penicillin-Blutserumspiegel nach Applikation von Tardomyocel comp. und Streptomyocel-Öl beim Hund

Vet. med. Diss FU Berlin 1957

LORENZEN, P. Anwendung und Auswertung des Antibiotikatests in der bakteriologischen Fleischuntersuchung

Arch. Lebensmittelhyg. 18, 30-32 (1967)

LUKASS, H. Untersuchungen über die Auswirkungen der Erhitzung antibiotischer Reinsubstanzen und Antibiotika in Organ- und Fleischproben normal geschlachteter Kälber auf die biologische Aktivität im mikrobiologischen Hemmstofftest

Vet. med. Diss. Hannover 1971

MARTEN, G., BRONSCH, K. u. H. LÜDERS

Zur Frage der Oxytetracyclinspeicherung in Knochengewebe nach Zusatz dieses Stoffes zu Kälber-,Schweine- und Mastgeflügelrationen

Zschr. Tierphysiologie, Tierernährung, Futtermittelkd. 21, 183-194 (1966)

MAYR, A. Antibiotikaallergien beim Tier

Prakt. Tierarzt 50, 264-265 (1969)

MAYR, A. u. R. BIBRACH

Antibiotikaallergien beim Tier

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 82, 182-194 (1969)

MEREDITH, W.E., WEISER, H.H. and A.R. WINTER

Chlortetracycline and Oxytetracycline residues in poultry tissues and eggs

Appl. Microbiol. 13, 86-89 (1965)

MERKENSCHLAGER, M.

Der Einfluß des Zusatzes von Antibiotika zum Futter auf die Mikroorganismenflora von Nutztieren

Arch. Hyg. Bakt. 149, 659-668 (1965)

MEYER, F. Die Verwendung von Antibiotika in der Rindermast

Tierzüchter 20, 767-769 (1969)

MEYER, B., THIEL, W. u. W. WEIS

Bedeutung und Nachweis von Hemmstoffen im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung

Fleischwirtschaft 49, 203-209 (1969)

MEYN, A., KALICH, J. u. M. MERKENSCHLAGER

Der Einfluß der Antibiotika-Beifütterung und der Antibiotika-Therapie auf das Ergebnis der bakteriologischen Fleischuntersuchung

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 73, 81-87 (1960)

MITSCHERLICH, E. Untersuchung über Höhe und Dauer des Penicillinblutspiegels bei Schafen nach Anwendung von zwei verschiedenen Depotpenicillinen

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 73, 281-283 (1960)

MÜLLER, H. Über Antibiotika und Hormone bei feilgehaltenem Geflügelfleisch

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 75, 68-70 (1962)

NEAL, C.E. and H.E. CALBERT

The use of tetrazolium salts as indicators for lactic starter inhibitory substances

4th Internat. Dairy Congress, Rome 1956, Proceedings 2, Part II, 359-366 (1956)

OBERZILL, W. Mikrobiologische Analytik

Verl. H. Carl Nürnberg 1962

OBERZILL, W. Die Antibiotika, Bd. I, Teil I

Verl. H. Carl Nürnberg 1967

OBIGER, G.

Grundsätzliche Bemerkungen des Bundesgesundheitsamtes zum allgemeinen Hemmstofftest

Stellungnahme an den Bundesminister für Jugend, Familie und Gesundheit vom 31.7.1972

PICHNARCIK, J., WENZEL, S. u. W. GISSKE

Beitrag zur Methodik des Hemmstoffnachweises in Organen und Muskulatur von Schlachttieren

Arch. Lebensmittelhyg. 20, 272-279 (1969)

PIENING, H.

Vergleich biologischer Methoden zum Nachweis von Hemmstoffen in Schweinenieren

Vet. med. Diss. München 1962

PILET, C. et B. TOMA

Étude sur la themostabilité de quelques antibiotiques

Rec. méd. vét. 145, 897-910 (1969)

PILZ, W. u. W. KAUFMANN

"Tardomyocel" ein neues Depotpenicillinpräparat

Vet. med. Nachr. 91-99 (1956)

REMBOLD, F.

Antibiotika in der Tierernährung
B. Die mittleren Antibiotika 709-788
In : R. Brunner, G. Machek : Die Antibiotika

Verl. H. Carl Nürnberg 1965

ROLINSKI, Z. u. H. FIDECA

Bestimmung der Penicillinkonzentration im Schweineblut nach parenteraler Anwendung von Procain-Penicillin, Debicillin und Penatrit (poln.)
Med. weteryn 18, 654-658 (1962)

RUSOFF, L.L., HESTER, H.H. and F.T. LANDAGORD

Concentration of Chlortetracycline in the body of dairy calves receiving nutrional levels of the antibiotic

Antibiotic Ann. 348 (1954/55)

SCHAAL, E.

Erfahrungen über den mikrobiologischen Hemmstoffnachweis bei Geflügelfleisch

Fleischwirtschaft 13, 561-563 (1961)

SCHAAL, M. Untersuchungen über die Empfindlichkeit von Testkeimen im allgemeinen Hemmstofftest (A.H.-Test) und mikrobiologisch-chemischen Test (M.C.-Test) im Hinblick auf die qualitative und quantitative Nachweismöglichkeit von Hemmstoffen (Antibiotika) in Fleisch

Vet. med. Diss. Hannover 1972

SCHEIBNER, G. Vorkommen und Abbau von Antibiotika im Fleisch

Mh. Vet.-Med. 24,739-742 (1969)

ders. Untersuchungen über die Beeinflussung verschiedener Antibiotika durch die Brühwurst-Herstellungstechnologie

Mh. Vet.-Med. 27, 161-164 (1972)

SCHMIDT, U. u. W.WOLTERSDORF Antibiotika-Rückstände in Schweinefleisch

Vortr. Kulmbacher Woche, Okt. 1973

SCHOTHORST, M. Residues van Antibiotika in slachtdieren

Vet. med. Diss. Utrecht 1970

ders. Nachweis und Identifizierung einiger Antibiotika bei Schlachttieren

Fleischwirtschaft 50, 1085-1087 (1970)

SCHUMACHER, E. Chemie, Pharmazie und Pharmakologie der in der Veterinärmedizin gebräuchlichen Antibiotika

Schw. Arch. Tierheilkd. 104, 350-360 (1962)

SCHWEISHEIMER, W. Zur Konservierung von Lebensmitteln mit Antibiotika in den USA

Ernährungswirtschaft 7, 403-405 (1960)

SHAHANI, K.M., GOULD, I.A., WEISER, H.H. and W.L. SLATTER Stability of small concentrations of Penicillin in milk as affected by heat treatment and storage

J. Dairy Sci. 39, 971-977 (1956)

dies. Effect of heat treatments on Streptomycin and Chlortetracycline in milk

Antibiotic. Ann. 353-360 (1954)

SHAHANI, K.M. The effect of heat and storage on the stability of Aureomycin in milk, buffer and water

J. Dairy Sci. 40, 289-296 (1957)

ders. Factors affecting Terramycin activity in milk, broth, buffer and water

J. Dairy Sci. 41, 382-391 (1958)

SLUZEWSKI, R. u. R. KLINKA

Untersuchungen über den Schwund im Muskelgewebe und inneren Organen der Schlachttiere der zu Heilzwecken verabreichten Antibiotika (poln.)

Med. weteryn. 2o, 714-716 (1965)
ref. Landw. Zbl. IV, 12, 378 (1967)

SMEJKAL, J., VAUROVA, M., SLAVIK, L. u. Z. FRYDRYCH

Die Zugabe von Antibiotika zu Futtermischungen und die Bestimmung ihrer Rückstände in Geweben von Schlachttieren

Fleischwirtschaft 53, 91-94 (1973)

SPROCKHOFF, H. Zum Nachweis von Antibiotika in der Niere von Schlachttieren bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung mittels Triphenyltetrazolium-Chlorid

Dtsch. tierärztl. Wschr. 67, 620-622 (1960)

TAKACS, J. u. S. KOVACS

Demonstration of antibiotic residues in the meat of slaughtered animals

Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 19, 11-19 (1969)

TANGL, H. Über die Wirkung der Antibiotikafütterung auf den Körper und auf die Nachkommenschaft

Wien. tieräztl. Mschr. 51, 734-747 (1964)

TAYLOR, The effect of adding an antibiotic supplement to the diet of animals (1955)

zit. Meyn, J. et al. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 73, 81-87 (1960)

TARR, H.L.A. Microbiological deterioration of fish post mortem, its detection and control

Bact. Rev. 18, 1-15 (1954)

TERPLAN, G. Biologischer Nachweis von Hemmstoffen in Fleischkonserven

Arch. Lebensmittelhyg. 11, 37-38 (1960)

TIEWS, J. Entwicklungstendenzen beim Einsatz einiger Wirkstoffe in der Tierernährung

Schlacht-Viehhof-Ztg. 72, 237-244 (1972)

VONDERBANK, H. Aureomycin und Achromycin, klinische Wirkung, deren experimentelle Grundlagen

Editio Cantor, Aulendorf 1967

WALLHÄUSER, K.H. u. H. SCHMIDT

Die quantitative Bestimmung der antibiotischen Wirksamkeit
Sterilisation, Desinfektion, Konservierung, Chemotherapie

Verl. G. Thieme Stuttgart1967

WALTER, A.M. u. L. HEILMEYER

Antibiotika-Fibel

Verl. G. Thieme Stuttgart 1965

dies. Antibiotika-Fibel

Verl. G. Thieme Stuttgart 1969

WATANABE, T. and T. FUKASAWA

Episomic-mediated transfer of drug resistance in Enterobacteriaceae.
IV. Interaction between resistance transfer factor and F-factor in E. coli K 12

J. Bacteriol. 83, 727-735 (1960)

WELZ, W. Zur Frage einer möglichen Beeinflussung des Hemmstoffnachweises im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung durch in Pflanzen vorkommende antibakterielle Wirkstoffe

Arch. Lebensmittelhyg. 18, 230-231 (1967)

WENZEL, S. Allgemeiner Hemmstoffnachweis bei krankgeschlachteten Rindern und Schweinen und ein Vergleich mit dem Hemmstoffnachweis bei normalgeschlachteten Tieren

Arch. Lebensmittelhyg. 22, 2oo-2o5 (1971)

WOLTERSDORF, W. u. U. SCHMIDT

Verhalten von Antibiotika-Rückständen bei der Verarbeitung von Fleisch und Fleischerzeugnissen

Vortr. Kulmbacher Woche, Okt. 1973

ZÄHNER, H. Die Verwendung von Antibiotika

33. Tag. Dtsch. Ges. Hyg. Mikrobiol. Freiburg, Juni 1971

ZAKORDONEC, V.S. Verteilung von Tetracyclin-Hydrochlorid im Organismus von Tränkkälbern bei unterschiedlichen Methoden der Verabreichung (russ.)

ref. Landw. Zbl. IV, 13, 1290 (1968

N.N. Antibiotika in der Tierernährung

Dtsch. Tierärztebl. 17, 341-342 (1969)
Mitteilung III. vom 15.8.1969

Nachtrag:

GOODMAN, L.S. u. GILMAN, A.

The pharmacological basis of therapeutics

The Macmillan Company, 1970
pp. 1177 - 1310

KUSCHINSKY, G. u. LÜLLMANN, H.

Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie

Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974
pp. 208 - 220

NOUWS, J.F.M. Mikrobiologisch aktive Antibiotikarückstände bei normal geschlachteten, mit Milchaustauschfutter gefütterten Mastkälbern

Fleischwirtschaft 54, 1066 - 1068 (1973)

N.N. in "Flavomycin - Symposium"
Rottach-Egern, 23. Okt. 1969 (1969)
pp. 133 - 143

Danksagung

Herrn Prof. Dr. G. Reuter bin ich für die Überlassung des Themas sowie für wissenschaftliche Vorschläge und Anregungen sehr dankbar.

Ebenso möchte ich Herrn Prof. Dr. R. Levetzow und seinen Mitarbeitern und Herrn Dr. T. Beyer vom Institut für Veterinärmedizin - Robert-von-Ostertag-Institut - am Bundesgesundheitsamt Berlin sowie Herrn Dr. M. Marx aus der Fachrichtung Fleischhygiene für die mir erwiesene freundliche Hilfe danken.

Lebenslauf

Am 8. Februar 1948 wurde ich, Muammer Ugur, als Sohn des Hasbi Ugur und seiner Ehefrau Hava in Palu/Türkei geboren.

Nach fünfjähriger Grundschulzeit besuchte ich dort auch die Mittelschule. Ab 1960 ging ich auf das Gymnasium in Elazig, wo ich 1963 das Abitur bestand.

Im Wintersemester 1963/64 begann ich mit dem Studium an der tierärztlichen Fakultät der Universität in Ankara und legte dort 1969 das tierärztliche Staatsexamen ab.

Seit Herbst 1971 bin ich am Institut für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und -technologie - Fachrichtung Fleischhygiene- der Freien Universität Berlin mit der Anfertigung meiner Doktorarbeit beschäftigt.

B. Ladewig - Dissertationsdruck - 1 Berlin 12 - Pestalozzistraße 106
Tel.: 3128885 - 3138198